

ANÁLISIS DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN PARA LA DETECCIÓN DE LA  
DIABETES

YECID ESNEIDER CASTELLANOS JAIME  
CRISTIAN CAMILO GALINDO MORENO

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE COLOMBIA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
INGENIERÍA ELECTRÓNICA Y TELECOMUNICACIONES  
BOGOTÁ D.C.  
2020

# ANÁLISIS DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN PARA LA DETECCIÓN DE LA DIABETES

YECID ESNEIDER CASTELLANOS JAIME 702287  
CRISTIAN CAMILO GALINDO MORENO 702257

Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Electrónico y de  
Telecomunicaciones

Director  
MÓNICA ANDREA RICO MARTÍNEZ, MSc, PhD.

Codirector  
JUAN CARLOS SALCEDO REYES, PhD.

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE COLOMBIA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
INGENIERÍA ELECTRÓNICA Y TELECOMUNICACIONES  
BOGOTÁ  
2020



Atribución-NoComercial-SinDerivadas 2.5 Colombia (CC BY-NC-ND 2.5)

La presente obra está bajo una licencia:

**Atribución-NoComercial-SinDerivadas 2.5 Colombia (CC BY-NC-ND 2.5)**

Para leer el texto completo de la licencia, visita:

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.5/co/>

Usted es libre de:



Compartir - copiar, distribuir, ejecutar y comunicar públicamente la obra

**Bajo las condiciones siguientes:**



**Atribución** — Debe reconocer los créditos de la obra de la manera especificada por el autor o el licenciante (pero no de una manera que sugiera que tiene su apoyo o que apoyan el uso que hace de su obra).



**No Comercial** — No puede utilizar esta obra para fines comerciales.



**Sin Obras Derivadas** — No se puede alterar, transformar o generar una obra derivada a partir de esta obra.

Nota de aceptación:

---

---

---

---

---

---

---

Firma del presidente del jurado

---

Firma del jurado

---

Firma del jurado

## PAGINA DEDICATORIA

Este trabajo de grado quiero dedicárselo a mi familia en especial a mis padres, quienes con mucho esfuerzo día a día se levantaron a trabajar fuertemente para permitirme cumplir este sueño y además dar gracias por su amor, dedicación y apoyo en los momentos difíciles que tuve en mi proceso académico.

Por último, dar gracias a mi compañero de tesis, mi directora y mi tutor, ya que gracias a ellos se logró realizar esta tesis y además se aprendieron diferentes cosas que me sirven para aplicar en la vida diaria.

Cristian Galindo.

Quiero dedicar el presente trabajo principalmente a mis padres y hermanas que en todos los momentos de mi vida me han brindado su apoyo en las distintas formas en que solo ellos saben expresar.

Así mismo, a mis compañeros que han estado desde el inicio de la carrera y a los amigos que he hecho a lo largo de esta carrera ya que ellos han sido un apoyo incondicional a lo largo de estos años.

Por otro lado, quiero agradecer a los profesores y laboratoristas de la universidad ya que han sido una gran ayuda en mi formación profesional y como persona.

Yecid Castellanos

## AGRADECIMIENTOS

Primero que todo, agradecer a Dios y a nuestros padres, quienes nos apoyaron incondicionalmente para lograr cumplir este sueño. En segundo lugar, a nuestra directora de tesis Mónica Andrea Rico Martínez y nuestro codirector Juan Carlos Salcedo Reyes, quienes nos aportaron su apoyo, tiempo y conocimiento para llevar a cabo este trabajo de grado satisfactoriamente. Por último, agradecer a la Universidad Católica de Colombia, profesores y laboratoristas que nos acompañaron en nuestra formación, brindándonos una parte de su experiencia que aportó ampliamente en el desarrollo de nuestros propios criterios y a su vez poner diversas herramientas a nuestra disposición para formarnos como profesionales.

Autores

## TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN .....	17
1. GENERALIDADES .....	19
1.1. ANTECEDENTES .....	19
1.1.1. Prueba de diabetes mediante aplicaciones de biosensores .....	19
1.1.2. Prueba de diabetes mediante OGTT o FPG .....	20
1.1.3. Espectroscopia Raman para la detección de diabetes .....	21
1.1.4. Espectroscopia Raman basada en muestras de suero .....	21
1.1.5. Espectroscopia Raman tomada del pliegue ungueal de un dedo .....	22
1.1.6. Perfil espectral Raman de prueba aplicada en animales .....	22
1.1.7. Espectroscopia Raman combinada con red neuronal de circulación independiente (MSCIR) para diagnosticar hepatitis B (VHB) .....	23
1.1.8. Espectroscopia Raman confocal de mano (CRS) en pacientes con dermatitis atópica (DA) .....	23
1.1.9. Espectroscopia Raman combinada con algoritmo para análisis y detección de insuficiencia renal crónica (IRC) .....	24
1.1.10. Espectroscopia Raman aplicada a una muestra de plasma sanguíneo para la detección de cáncer de seno .....	24
1.1.11. Espectroscopia Raman para detectar y cuantificar la cocaína en el fluido oral presente en una persona .....	25
1.1.12. Análisis de la enfermedad tuberculosa mediante espectroscopía Raman combinada con el análisis de sueros sanguíneos .....	25

1.1.13.	Diferenciación entre etapas de enfermedades del hígado graso no alcohólico utilizando espectroscopía Raman de superficie mejorada .....	26
1.1.14.	Tecnología de detección de suero rápida y no invasiva basada en espectroscopia Raman de superficie mejorada y análisis estadístico multivariado para enfermedad hepática .....	26
1.1.15.	Diagnóstico de la enfermedad de Chagas a partir de suero sanguíneo humano utilizando espectroscopía de dispersión Raman mejorada en superficie (SERS) y métodos quimiométricos.....	27
1.1.16.	Detección de cáncer de próstata por espectroscopía Raman: un estudio multivariado en pacientes con valores normales y alterados de PSA.....	27
1.2.	JUSTIFICACIÓN .....	28
1.3.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	29
1.4.	OBJETIVOS .....	30
1.4.1.	Objetivo general .....	30
1.4.2.	Objetivos específicos .....	31
1.5.	METODOLOGÍA .....	31
1.6.	ALCANCES Y LIMITACIONES .....	32
1.7.	MARCO REFERENCIAL.....	33
1.7.1.	Marco teórico .....	33
1.7.1.1.	Diabetes.....	33
1.7.1.2.	Joseph von Fraunhofer (Padre de la espectroscopia) .....	34
1.7.1.3.	Definición de Espectroscopia Raman .....	34
1.7.1.4.	Aplicaciones de la Espectroscopia Raman .....	34



1.7.1.5.	Espectro Raman .....	35
1.7.1.6.	Sangre .....	36
1.8.	IMPACTO.....	36
1.8.1.	Impacto social .....	36
1.8.2.	Impacto educativo.....	37
2.	TÉCNICAS PARA REALIZAR DIAGNÓSTICO DE DIABETES MEDIANTE ANÁLISIS DE SANGRE .....	38
2.1.	PRUEBA DE HEMOGLOBINA GLUCOSILADA (A1C) .....	38
2.1.1.	Ventajas y desventajas .....	38
2.1.2.	Método.....	39
2.1.3.	Procedimiento .....	39
2.1.4.	Valoración de la prueba .....	39
2.2.	PRUEBA DE GLUCEMIA CAPILAR .....	39
2.2.1.	Ventajas y desventajas .....	40
2.2.2.	Método.....	40
2.2.3.	Procedimiento .....	40
2.2.4.	Valoración de la prueba .....	41
2.3.	GLUCOSA PLASMÁTICA EN AYUDANAS (FPG).....	41
2.3.1.	Ventajas y desventajas .....	41
2.3.2.	Método.....	41
2.3.3.	Procedimiento .....	41
2.3.4.	Valoración de la prueba .....	42
2.4.	PROTOCOLO DE LA SANGRE EN TÉCNICAS CONVENCIONALES .....	42

2.4.1.	Preparación.....	43
2.5.	TABLA COMPARATIVA DE LAS TÉCNICAS CONVENCIONALES PARA EL ANÁLISIS DE LA DIABETES.....	44
2.6.	ESPECTROCOPIA RAMAN .....	45
2.6.1.	Ventajas y desventajas .....	46
2.6.2.	Método.....	46
2.6.3.	Procedimiento .....	46
2.6.4.	Valoración de la prueba .....	46
2.6.4.1.	En suero .....	46
2.6.4.2.	En RBC.....	48
2.7.	COMPARACION DE LAS TECNICAS CONVENCIONALES CON LA ESPECTROSCOPIA RAMAN .....	49
3.	ETAPAS DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN PARA EL DIAGNOSTICO DE LA DIABETES .....	52
3.1.	EXPLICACIÓN TECNICA ESPECTROSCOPIA RAMAN .....	52
3.2.	ESPECTRO RAMAN .....	54
3.3.	DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA RAMAN.....	55
3.4.	SISTEMA RAMAN BASE TEORICA.....	57
3.5.	TRATAMIENTO RESPECTIVO DE LA MUESTRA DE SANGRE .....	58
3.5.1.	Protocolo.....	58
3.5.1.1.	Comparación de Protocolos de alistamiento de la sangre .....	59
4.	IMPLEMENTACIÓN DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN PARA EL DIAGNÓSTICO DE DIABETES.....	62
4.1.	PREPARACIÓN DE LA MUESTRA DE SANGRE .....	62

4.2.	IMPLEMENTACIÓN ESPECTROSCOPIA RAMAN.....	66
4.2.1.	Prueba muestra Inicial .....	66
4.2.2.	Prueba muestra final.....	69
5.	COMPARAR LAS PRUEBAS REALIZADAS DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN CON LA BASE TEÓRICA REFERENTE A LA ESPECTROSCOPIA RAMAN DIVULGADA EN LA LITERATURA SOBRE EL ANÁLISIS DE LAS CÉLULAS DE LOS GLÓBULOS ROJOS DE LA SANGRE.....	72
5.1.	DESCRIPCIÓN RESULTADOS DEL ARTICULO BASE .....	72
5.2.	COMPARACIÓN DE RESULTADOS OBTENIDOS CON LOS RESULTADOS DEL ARTICULO BASE .....	73
5.3.	COMPARACIÓN DE PROMEDIO ESPECTRAL .....	77
6.	CONCLUSIONES.....	80
7.	TRABAJO FUTURO .....	82
8.	ESTRATEGIAS DE COMUNICACIÓN PARA LA TRANSFERENCIA DE RESULTADOS.....	83
	BIBLIOGRAFIA .....	84
	ANEXOS .....	91

## LISTADO DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Diagrama metodología .....	31
Figura 2. Espectro Raman .....	35
Figura 3. Composición de la sangre .....	44
Figura 4. Espectro Raman en suero.....	47
Figura 5. Espectro Raman .....	48
Figura 6. Representación de los tres tipos de dispersión de luz .....	52
Figura 7. Procesos de dispersión Rayleigh y Raman .....	54
Figura 8. Obtención de espectro Raman.....	55
Figura 9. Diagrama básico para realizar espectroscopia Raman .....	56
Figura 10. Diagrama Espectroscopia Raman.....	58
Figura 11. Entrega de muestra de sangre de una persona con diabetes .....	62
Figura 12. Separación de la muestra de sangre: a. Muestra de sangre inicial. b. Distribución de la muestra en 2 tubos de microcentrífuga.....	63
Figura 13. Ubicación de los 2 tubos de microcentrífuga: a. Centrífuga. b. Balanceo del rotor de la centrífuga. ....	64
Figura 14. Separación del suero y los RBC. ....	64
Figura 15. Eliminación de impurezas de los RBC: a. Extracción de impurezas. b. Aplicación de solución salina.....	65
Figura 16. RBC sobre porta vidrio de cuarzo .....	65
Figura 17. Sistema Raman empleado. ....	66
Figura 18. Ajuste de muestra en el microscopio.....	67

Figura 19. Visualización de la muestra en el microscopio.....	68
Figura 20. Inicio espectroscopia Raman .....	68
Figura 21. Espectro Raman.....	69
Figura 22. Sistema Raman empleado .....	70
Figura 23. Microscopio .....	70
Figura 24. Espectro Raman (realizado en el software Origin) .....	71
Figura 25. Intensidades Raman presentes en los RBC: a. Espectro Raman RBC de una persona sana y de una con diabetes. b. Intensidades características. ....	72
Figura 26. Espectro Raman(RBC): a. Espectro tesis. b. Espectro articulo base. ....	76
Figura 27. Ficha Técnica del Sistema Raman.....	93

## LISTADO DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Comparación de técnicas convencionales para diagnóstico de diabetes mediante análisis de sangre.....	45
Tabla 2. Comparación de técnicas para el diagnóstico de diabetes.....	50
Tabla 3. Comparación de protocolos.....	61
Tabla 4. Resumen de Picos característicos .....	77
Tabla 5. Porcentaje de variación de los espectros .....	78
Tabla 6. Objetivos vs resultados .....	79
Tabla 7. Promedio del espectro obtenido .....	91
Tabla 8. Promedio del espectro del artículo base. a. Persona con diabetes b. Persona sana .....	92

## LISTADO DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A Tablas de promedio de los espectros Raman .....	91
ANEXO B FICHA TECNICA DEL ID RAMAN MICRO (OCEAN OPTICS) .....	93

## GLOSARIO

**Amida:** Es un derivado funcional de los ácidos carboxílicos, es utilizada para pH bajos, como antitranspirantes y como neutralizantes<sup>1</sup>.

**Detector (CCD):** Sus siglas traducen dispositivo de carga acoplada, es un detector fotónico muy sensible, se divide en píxeles los cuales tienen como fin captar la luz y mostrar el área de interés, es utilizado en espectroscopias debido a su capacidad de captar la luz son adecuados para el análisis de la señal Raman, detectando el espectro en una sola toma<sup>2</sup>.

**Divisor de haz:** Es un dispositivo óptico que se encarga de dividir el haz incidente, el no altera los fotones solo cambia sus estados.<sup>3</sup>

**Espectrómetro:** Es un instrumento empleado para medir el tipo de espectro que es generado cuando se emite un haz de luz sobre una superficie o muestra, este se encarga de descomponer el haz de luz en diferentes longitudes de onda para obtener las características naturales de la muestra. El espectrómetro está compuesto por varios lentes, un colimador, una rejilla de difracción y un ocular<sup>4</sup>.

**Fenilalanina:** Es un aminoácido que se encarga de controlar la secreción de colecistoquinina, la cual es la hormona que controla la saciedad y disminuye el apetito en una persona. La fenilalanina puede bloquear algunas enzimas específicas que se encuentran presentes en el sistema nervioso central, generando disminución del dolor y mejorando el estado de ánimo de una persona<sup>5</sup>.

**Filtro match:** Este filtro tiene como objetivo eliminar el ruido de la señal, este genera que la relación S/N tome el valor máximo en la entrada del demodulador, esto lo puede lograr gracias a su función de transferencia maximizando la señal y disminuyendo el ruido al instante<sup>6</sup>.

---

<sup>1</sup> MAHESH, Sriram; TANG, Kuei-Chien; RAJ, Monika. Amide bond activation of biological molecules. *Molecules*, 2018, vol. 23, no 10, p. 2615.

<sup>2</sup> Horiba. ¿Qué es un detector CCD?. [consultado:10/04/2020]. Disponible en: [https://www.horiba.com/en\\_en/technology/measurement-and-control-techniques/spectroscopy/detectors/what-is-a-ccd-detector/](https://www.horiba.com/en_en/technology/measurement-and-control-techniques/spectroscopy/detectors/what-is-a-ccd-detector/)

<sup>3</sup> BEERS, Yardley. *The theory of the optical wedge beam splitter*. National Bureau of Standards, 1974.

<sup>4</sup> Jeremy F. Schultz, Sayantan Mahapatra, Linfei Li, and Nan Jiang, "The Expanding Frontiers of Tip-Enhanced Raman Spectroscopy," *Appl. Spectrosc.* 74, 1313-1340 (2020).

<sup>5</sup> ZHOU, Wen, et al. Gold nanoparticles for in vitro diagnostics. *Chemical Reviews*, 2015, vol. 115, no 19, p. 10575-10636.

<sup>6</sup> BANCROFT, John C. Introduction to matched filters. CREWES Research, 2002, vol. 297.



**Fosfolípidos:** Se encargan de que el funcionamiento del cerebro sea el adecuado, crean barreras para proteger la célula, proporciona vías para diversas sustancias puedan cruzar hacia la membrana y ayuda a controlar el transporte de materiales y señales neurotransmisores<sup>7</sup>.

**Glucosa:** Es un azúcar monosacarida que tiene como función ser la fuente de energía que necesitan las células para su correcto funcionamiento, la cual es suministrada al cuerpo con ayuda de la digestión de alimentos<sup>8</sup>.

**Glutación:** Es una proteína que se genera de manera natural y su función es resguardar cada una de las células, tejidos y órganos que hacen parte del cuerpo humano. Se compone de tres aminoácidos, estos son: glicina, glutamato y cisteína<sup>9</sup>.

**Hiperglucemia:** Se define como altos niveles de azúcar en la sangre, las personas que sufren de esto por lo general no producen la insulina suficiente o no usan inmediatamente la insulina creada por el cuerpo o alimentos ingeridos. Mientras los valores de glucosa no sean superiores a 180 a 200 (mg/dL) no genera síntomas<sup>10</sup>.

**Insulina:** Es una hormona que se encarga de nivelar la glucosa que se encuentra en la sangre. Además, esta se encarga de ayudar a que la glucosa entre en las células del cuerpo para poder utilizarlas como fuente de energía para realizar actividades diaria o actividades que requieran esfuerzo<sup>11</sup>.

**Láser:** Se encarga de generar ondas en la gama óptica, este tiene una única longitud de onda permitiendo concentrar una gran cantidad de fotones en una misma fase generando su propagación en una única dirección<sup>12</sup>.

**Lente:** Es un elemento óptico transparente que permite refractar la luz para formar

---

<sup>7</sup> BANGHAM, Alec D. Membrane models with phospholipids. Progress in biophysics and molecular biology, 1968, vol. 18, p. 29-95.

<sup>8</sup> BAZ, Baz; RIVELINE, Jean-Pierre; GAUTIER, Jean-Francoise. Gestational diabetes mellitus: definition, aetiological and clinical aspects. Eur J Endocrinol, 2016, vol. 174, no 2, p. R43-51.

<sup>9</sup> Verónica Mollejo. Alimento. Los alimentos que contienen glutación, el antioxidante más poderoso. Marzo 26 del 2020. [consultado:10/04/2020]. Disponible en: [https://www.alimento.elconfidencial.com/bienestar/2020-03-26/glutation-poderoso-antioxidante\\_1645378/](https://www.alimento.elconfidencial.com/bienestar/2020-03-26/glutation-poderoso-antioxidante_1645378/)

<sup>10</sup> Mayoclinic. Hiperglucemia en la diabetes. [consultado:10/04/2020]. Disponible en: <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/hyperglycemia/symptoms-causes/syc-20373631>

<sup>11</sup> KidsHealth. Insulina. [consultado:10/04/2020]. Disponible en: <https://kidshealth.org/es/parents/insulin-esp.html>

<sup>12</sup> SILFVAST, William T. Laser fundamentals. Cambridge university press, 2004.

una imagen. Este puede ser cóncavo o convexo<sup>13</sup>.

**medición FPG:** Es una prueba para medir la cantidad de glucosa presente en el torrente sanguíneo, esta muestra los niveles de azúcar y es muy usada para diagnosticar diabetes o para monitorear<sup>14</sup>.

**PG2h:** se implementa como medidor de riesgo cardiovascular para las personas que están en tratamiento por diabetes<sup>15</sup>.

**Polisacáridos:** Es un polímero que posee diversas funciones en el cuerpo, las cuales son: desarrollo de las estructuras orgánicas, almacenar energía y actúa como mecanismo de protección<sup>16</sup>.

**Prueba A1c:** Es una muestra que se aplica para observar el nivel de azúcar promedio que se encuentra en la sangre durante los últimos 2 o 3 meses<sup>17</sup>.

**Triptófano:** Es un aminoácido importante para permitir el correcto funcionamiento de nuestro organismo previniendo que suframos de estrés, insomnio y depresión, pero este se debe obtener de alimento puesto que nuestro cuerpo no lo puede producir<sup>18</sup>.

---

<sup>13</sup> Juan Miguel. Astroyciencia. Que es una lente y tipos de lente. Septiembre 18 del 2011. [consultado:10/04/2020]. Disponible en:

<http://www.astroyciencia.com/2011/09/18/que-es-una-lente-y-tipos-de-lentes/>

<sup>14</sup> SINCLAIR, Alan J. Diabetes in old age. wiley blackwell, 2009.

<sup>15</sup> D. Mauricio.Docplayer. Diagnóstico difícil. 2010. [consultado:10/04/2020]. Disponible en: <https://docplayer.es/116296296-Diagnostico-dificil-que-a-quien-y-como-d-mauricio-sed-2010.html>

<sup>16</sup> Julián Pérez Porto y Maria Merino.Definición. Definición de Polisacáridos. 2015. [consultado:10/04/2020]. Disponible en: <https://definicion.de/polisacaridos/>

<sup>17</sup> SUAREZ, Frank. Diabetes Sin Problemas. EL Control de la Diabetes con la Ayuda del Poder del Metabolismo. eBookIt. com, 2015.

<sup>18</sup> Natalia Castejón.Web consultas. Triptófano, el aminoácido que mejora tu ánimo. Abril 11 del 2019. [consultado:10/04/2020]. Disponible en: <https://www.webconsultas.com/belleza-y-bienestar/habitos-saludables/que-es-el-triptofano-y-cuales-son-sus-propiedades>

## RESUMEN

En la actualidad la diabetes se ha convertido en una enfermedad crónica, en el mundo cada día aumentan los casos de diabetes. Esta enfermedad se caracteriza por un mal aprovechamiento por parte del cuerpo de la insulina o niveles bajos de la misma en el cuerpo.

Debido a que la diabetes causa fallas en diversos órganos tales como los ojos, riñones, vasos sanguíneos y nervios, los pacientes con esta patología deben llevar un control de la cantidad de glucosa presente en el torrente sanguíneo. La mayoría de las personas que poseen esta enfermedad deben realizar una prueba de glucosa con cierta periodicidad, dependiendo del avance de la enfermedad. En este trabajo de investigación se quiere estudiar una técnica denominada espectroscopia Raman, que permita el análisis en la muestra de sangre basado en un espectro denotado en número de onda, donde dependiendo de las variaciones presentes en los picos Raman se genera el reporte de si una persona esta sana o padece de diabetes.

El objetivo de este trabajo de grado es proporcionar información sobre una técnica ya implementada en la literatura para diagnosticar la diabetes. Para lograr esto lo primero que se realiza es recopilar información sobre las técnicas convencionales empleadas para dicho diagnóstico, seguidamente se expone la técnica espectroscopia Raman, teniendo en cuenta su definición, antecedentes, etapas del sistema y protocolos empleados en las muestras de sangre.

Adicionalmente se presenta un análisis comparativo sobre las técnicas convencionales de medición de la glucosa y la espectroscopia Raman, así como una comparación tanto de los protocolos empleados para realizar el análisis Raman y los resultados obtenidos en el laboratorio con una muestra de sangre, respecto a lo enunciado en la literatura.

El presente trabajo de grado de pregrado es realizado en la Universidad Católica de Colombia, esto es de vital importancia debido a que se plantea un estudio sobre la espectroscopia Raman empleada en la detección de diabetes, por primera vez en el programa de Ingeniería Electrónica y Telecomunicaciones. Así mismo, se realiza una prueba concepto que permite documentar las etapas de la espectroscopia Raman para su posterior implementación en trabajos futuros.

**Palabras clave:** Espectroscopia Raman, diabetes, Espectro Raman, diagnostico, muestra de sangre, glucosa, niveles de azúcar.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad la fotónica tiene gran impacto en la ingeniería, ya que la implementación de circuitos alimentados por luz y no por electrones introduce un cambio general relevante en la electrónica, disminuyendo el consumo de energía y mejorando la eficiencia de muchos dispositivos que requieren de altas potencias. Actualmente, en el mundo se está trabajando arduamente por crear dispositivos con fotones que permitan solucionar o detectar problemas en la salud y en general usar la fotónica en temas relacionados con la salud como: Neurocirugías, genética, tratamiento de dolor crónico, detección de tumores, niveles de azúcar en la sangre y así mismo en enfermedades como: diabetes, cáncer, etc.<sup>19</sup>

La Espectroscopia Raman es una técnica fotónica empleada en el análisis de semiconductores y materiales orgánicos e inorgánicos (Glucosa, Urea, colesterol, etc.)<sup>20</sup>. Esta técnica permite obtener la información química y estructural de los materiales. Para esto, se debe generar una excitación sobre el material, con un haz de luz (de manera incidente), para que éste experimente el fenómeno de dispersión y así se presenten cambios de longitud de onda según la estructura química de la muestra para lograr observar el espectro Raman en un dispositivo de medición como lo es el espectrómetro. Esta técnica analiza un material sin requerir una preparación especial<sup>21</sup>.

La diabetes es una enfermedad que aparece por mal funcionamiento del páncreas, el cual se encarga de la producción de insulina, la cual tiene como función controlar los valores convenientes de glucosa en la sangre, si esta es muy elevada tiende a ser perjudicial para todos los órganos del cuerpo<sup>22</sup>.

En este trabajo de grado se usó la Espectroscopia Raman para dar una prueba de concepto sobre la técnica en el diagnóstico de la diabetes. La implementación de la Espectroscopia Raman se aplicó para analizar la sangre y comparar los resultados con los previstos en la literatura. Así mismo, se implementó por primera vez en la Universidad Católica de Colombia una técnica óptica para el análisis de sangre, que en un futuro posiblemente servirá para la detección de otras enfermedades y otras

---

<sup>19</sup> Tomaso Becerra. Medium. Espectroscopía Raman y sus Aplicaciones Clínicas. Agosto 4 del 2017. [Consultado:19/05/2020]. Disponible en:<https://medium.com/@tomasobecerra/espectroscop%C3%ADa-raman-y-sus-aplicaciones-cl%C3%ADnicas-58035097711d>

<sup>20</sup> ARAUJO ANDRADE, Cuauhtémoc. Espectroscopía óptica aplicada al análisis químico de la sangre. 2005.

<sup>21</sup> SALA, Oawaldo. Capítulo 1: fundamentos de espectroscopía Raman. Fundamentos Da Espectroscopía Raman e No Infravermelho, 1996, p. 1 .

<sup>22</sup> Cuidateplus. Diabetes. Noviembre 12 del 2018. [Consultado:19/03/2020]. Disponible en:<https://cuidateplus.marca.com/enfermedades/digestivas/diabetes.html>

posibles implementaciones. De igual forma, se investigó cómo funciona cada etapa de una Espectroscopia Raman detalladamente, cómo es el proceso de análisis de la sangre, teniendo en cuenta el resultado evidenciado en el espectro de frecuencia que permite confirmar si la persona padece de diabetes, es de resaltar que se realizó la espectroscopia como una prueba de concepto, es decir sólo se analizó una sola muestra de sangre, para poder realizar un análisis comparativo de la implementación de la técnica con los resultados previamente encontrados en la literatura.

El presente trabajo de grado consta de 5 capítulos distribuidos de la siguiente forma: En el primer capítulo se encuentra la formulación del trabajo de grado incluyendo antecedentes, justificación, planteamiento del problema, objetivos, metodología, Marco de referencia, alcances y limitaciones. En el segundo capítulo se encuentra información detallada sobre las técnicas para diagnosticar diabetes empleadas actualmente. En el tercer capítulo se describe las etapas necesarias para la aplicación de la Espectroscopia Raman. En el cuarto capítulo se implementa el sistema que se utilizó para realizar el análisis de la sangre, con el fin de detectar si una persona padece de diabetes. En el quinto capítulo se compara las pruebas realizadas de la espectroscopia Raman en el laboratorio de la Universidad Pontificia Javeriana, con la base teórica referente a la espectroscopia Raman divulgada en la literatura sobre el análisis de las células de los glóbulos rojos de la sangre.

## **1. GENERALIDADES**

Los sistemas ópticos son implementados en temas relacionados con la salud, una de las técnicas más usadas es la Espectroscopia Raman, la cual es considerada una técnica no invasiva y que no necesita de ninguna alteración en la muestra para ser analizada. Gracias a las bases de datos (Scopus y Sciencedirect) se hace posible buscar información sobre la evolución y aplicaciones en donde se ha utilizado la Espectroscopia Raman. En este capítulo se encontrarán los principales apartados de la propuesta de trabajo de grado: antecedentes, marco teórico, justificación, planteamiento del problema, objetivos, metodología, alcances, limitaciones e impacto.

### **1.1. ANTECEDENTES**

En este apartado se describen diferentes métodos para realizar el diagnóstico de la patología de la Diabetes que se encuentran en la literatura y diversas aplicaciones de la Espectroscopia Raman empleada tanto para el diagnóstico de otras patologías como análisis de otros compuestos en fluidos.

#### **1.1.1. Prueba de diabetes mediante aplicaciones de biosensores**

El departamento de química de la universidad de Rhodes en Sudáfrica hizo un estudio basado en la aplicación correcta de los biosensores para la generación de películas delgadas de óxido metálico, estas mediante el proceso de reacción de reducción-oxidación (redox) está siendo una reacción química donde uno o más electrones se trasladan entre los distintos reactivos este proceso genera que la enzima redox de glucosa oxidasa produzca biointerfaces muy importantes capaces de detectar selectivamente la d-glucosa como medida de azúcar en sangre para pacientes sanos y diabéticos.

En este trabajo se investigó la electrodeposición de enzimas redox, como las enzimas glucosa oxidasa, sobre superficies de electrodos de oro modificadas anteriormente con óxido de níquel. Al analizar la película delgada después de ser modificada, se obtiene la electrodeposición de la enzima glucosa oxidasa (GOx) sobre una película delgada de óxido de níquel / hidróxido mostró una superficie con excelentes propiedades bioelectrocatalíticas para la detección de d -glucosa.

La cantidad de enzima GOx depositada se determinó integrando la carga ( $Q = 0.368 \mu\text{F}$ ) bajo el pico de reducción y se encontró que la cobertura de la superficie era  $1.43 \times 10^{-10} \text{ mol. cm}^{-2}$ . Mediante el análisis de los resultados de enzima GOx y utilizando la carga ( $Q=0.368$ ) se obtuvo la gráfica lineal de las corrientes de reducción electrocatalítica contra las concentraciones de d- glucosa en base a esto se calcula

una sensibilidad de  $1.95 \pm 0.13 \mu\text{A.mM.cm}^{-2}$  en los biosensores <sup>23</sup>.

### 1.1.2. Prueba de diabetes mediante OGTT o FPG

Un antecedente publicado por la American diabetes association (ADA), donde se indica que la hiperglucemia se caracteriza por fallas en la secreción de insulina o acción de la insulina, está a largo plazo puede llegar a generar hiperglucemia crónica disfunción y además produce fallas en diferentes órganos especialmente en los ojos, corazón, riñones, nervios y vasos sanguíneos.

Durante los últimos años la medición de la glucosa ha sido el método elegido para realizar el diagnóstico de diabetes, ya sea mediante la glucosa plasmática en ayunas (FPG) o la prueba de tolerancia a la glucosa oral (OGTT) de 75g. El primer Comité de Expertos en Diagnóstico y Clasificación de la Diabetes Mellitus estableció los criterios de diagnóstico, tomando en cuenta los niveles obtenidos mediante la medición de FPG y se comprende la importancia de la retinopatía (complicación de la diabetes que afecta los ojos), es uno de los factores primordiales para establecer el nivel umbral de glucosa. El Comité realizó tres estudios epidemiológicos transversales en los cuales valoraron la retinopatía mediante fotografía de fondo de ojo u oftalmoscopia directa y realizaron la medición de la glucemia como FPG, esto tiene como fin analizar la variación de sustancias elaboradas por el cuerpo con un comportamiento similar a las hormonas (PG) de 2 h y prueba de hemoglobina glicosilada (A1C). Basado en los resultados obtenidos en dichos estudios, se demostró que los niveles glucémicos que están por debajo de la retinopatía prevalente y por encima de los cuales la prevalencia de retinopatía se incrementó de una forma lineal. Como resultado de los análisis se determinó que no existía una variación de sustancias elaboradas por el cuerpo con un comportamiento similar a las hormonas (PG) en 2 h de larga data de  $\geq 200 \text{ mg / dL}$  ( $11.1 \text{ mmol/L}$ )

La prueba de hemoglobina glicosilada (A1C) es un marcador usualmente empleado en la glucemia crónica, que manifiesta los niveles promedio de glucosa en sangre durante un ciclo de 2 a 3 meses. Esta prueba es importante, ya que ayuda a determinar si los tratamientos empleados están teniendo un buen avance en la enfermedad. En las pruebas de A1C, los resultados tienden a ser tan precisos que se utilizan como exámenes de diagnóstico por su veracidad. Los criterios de glucosa seleccionados para diagnosticar diabetes se encuentran en proceso de validación.

---

<sup>23</sup> NqobileNjoko, MarcellLouzada, JonathanBrittona, et al. Bioelectrocatalysis and surface analysis of gold coated with nickel oxide/hydroxide and glucose oxidase towards detection of glucose. Noviembre 5 del 2019. [consultado:19/03/2020]. Disponible en: [https://www.sciencedirect-com.ucaticolica.basesdedatosezproxy.com/science/article/abs/pii/S0927776520302113?via%3Dihub](https://www.sciencedirect.com/ucaticolica.basesdedatosezproxy.com/science/article/abs/pii/S0927776520302113?via%3Dihub)

Estos incluyen el FPG y el PG de 2 h<sup>24</sup>.

### 1.1.3. Espectroscopia Raman para la detección de diabetes

La universidad Normal de Fujian utiliza un sistema de espectroscopia Raman (LTRS) de pinzas láser de infrarrojo cercano, el cual tiene como objetivo detectar la variación de la hemoglobina en los glóbulos rojos (RBCs) de la diabetes tipo 2 sin alterar la actividad biológica, el sistema se compone de un diodo láser de 785 nm, filtros pasa banda, un telescopio, espectroscópico y RBCs.

Este sistema permite el análisis de los glóbulos rojos tomando micro-muestras en personas diabéticas, realizando un análisis RBC Raman y utilizando un algoritmo para el análisis de componente principal (PCA), en este sistema se analizaron dos grupos, el primero está conformado por 35 personas con diabetes y el segundo por 35 personas saludables. Al analizar los espectros de RBC Raman obtenidos en las muestras, se encontraron cambios solamente en los componentes proteicos y el estado de oxigenación de la hemoglobina presentes en los glóbulos rojos. Con ayuda de un análisis empleando PCA donde se comparan los resultados con una prueba de hemoglobina glicada(A1C), los espectros de RBC Raman dieron un resultado de discriminación preciso para la detección de la diabetes con una sensibilidad del 100%, lo que indica el gran potencial de los LTRS como una herramienta analítica para promover la detección precisa de la diabetes tipo II<sup>25</sup>.

### 1.1.4. Espectroscopia Raman basada en muestras de suero

En la revista “Láser en Ciencias Médicas”<sup>26</sup>, se habla sobre la implementación de un sistema capaz de diagnosticar y diferenciar una persona con diabetes tipo 2 o una persona normal. Los autores plantearon un sistema basado en muestras de suero y mediante la espectroscopia Raman se aplicó un estudio preliminar a 100 personas de las cuales 80 su espectro es positivo para diabetes tipo 2 y 20 son personas con un espectro sano. Los espectros se procesaron corrigiendo la línea de base, eliminando el ruido y analizando el espectro por PCA (análisis del componente principal). El estudio reveló que las principales diferencias entre una persona con diabetes y una persona sana se observa en la variación de picos del glutatión, triptófano, tirosina,  $\beta$

---

<sup>24</sup>Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus.Enero 1 del 2014. [Consultado:19/03/2020]. Disponible en:

[https://care.diabetesjournals.org/content/37/Supplement\\_1/S81](https://care.diabetesjournals.org/content/37/Supplement_1/S81)

<sup>25</sup> Boniface M. Chege, Zephania Birech, Peter W. Mwangi y Frederick O. Bukachi. Utility of Raman spectroscopy in diabetes detection based on biomarker Raman bands and in antidiabetic efficacy studies of herbal extract *Rotheca myricoides* Hochst. Julio 23 del 2019. [Consultado:19/03/2020]. Disponible en: <https://cutt.ly/YhyvjLN>

<sup>26</sup> J. L. Gonzalez-Solis, J. R. Villafan-Bernal, B. E. Martinez-Zerega, S. Sanchez-Enriquez. Type 2 diabetes detection based on serum sample Raman spectroscopy. Mayo 17 del 2018. [Consultado:19/03/2020]. Disponible en: <https://n9.cl/ydkf>



caroteno y amida III.

Al comparar las muestras obtenidas por el sistema Raman con los resultados de laboratorio de los pacientes, se logra diferenciar con un 96% de sensibilidad y un 99% de especificidad entre personas con diabetes y personas sanas

#### **1.1.5. Espectroscopia Raman tomada del pliegue ungueal de un dedo**

La Universidad Normal del Sur de China publicó un documento en la revista moléculas, donde muestra cómo se implementa un experimento en 12 personas con edad promedio de 25 años, 6 hombres y 6 mujeres con el fin de medir la cantidad de glucosa en la sangre con la ayuda de la técnica espectroscopia Raman, la cual se obtiene del pliegue ungueal del cuarto dedo de los voluntarios, esta es colocada debajo del cabezal de una sonda y el lente tiene como objetivo enfocar los micro vasos del pliegue ungueal. Este tipo de procedimientos se encargan de analizar el espectro y dependiendo los picos captados por la medición de la espectroscopia Raman, se puede tener los valores de los picos para ser analizados en un algoritmo BP-ANN que permite establecer los niveles de glucosa en la sangre de una manera rápida eficiente y sin ninguna invasión al cuerpo o alteración de la muestra<sup>27</sup>.

#### **1.1.6. Perfil espectral Raman de prueba aplicada en animales**

En este antecedente encontrado en la Universidad de Nairobi se hace el análisis espectral Raman aplicado a la sangre de las ratas, éste se realiza aplicando una gota de sangre sobre un portaobjetos de vidrio conductor con manchas de plata con el fin de mostrar el perfil espectral Raman de la sangre de las ratas. En los resultados de la espectroscopia se muestra que mediante el perfil espectral de Raman aplicado a la sangre de una rata se pueden determinar múltiples señales de valina, leucina isoleucina, creatina, glucosa y fructosa tose. Gracias a las bandas espectrales de Raman que se pueden asociar a las biomoléculas que permiten la detección prediabética y el tiempo estimado en que la enfermedad empezará a mostrar sus efectos.

En el análisis espectral se evidencian picos en el número de onda 537 cm asociado a la vibración oscilante de CO<sub>2</sub> de valina, 829 cm – 1 asignado a la vibración oscilante CH<sub>2</sub> en leucina y 917–960 cm – 1 atribuido a C C y C – N estiramiento y vibraciones de balanceo CH<sub>3</sub> en varias biomoléculas. Estas bandas se vieron afectadas al momento en que se les agregó medicamentos antidiabéticos causando que sus

---

<sup>27</sup> Li, Zang, Sun, Jiao, et al. A noninvasive accurate measurement of blood glucose levels with Raman spectroscopy of blood in microvessels. Mayo 17 del 2018. [Consultado:19/03/2020]. Disponible en: <https://cutt.ly/RhyyKGO>

valores de medición se acercaran a los de una rata sin diabetes, gracias a estas dos mediciones se pueden determinar bandas de biomarcadores de diabetes<sup>28</sup>.

#### **1.1.7. Espectroscopia Raman combinada con red neuronal de circulación independiente (MSCIR) para diagnosticar hepatitis B (VHB)**

Para el diagnóstico del virus de hepatitis B (VHB) se encuentra un estudio en la revista *Vibrational Spectroscopy*, donde se combina un sistema de espectroscopia Raman y un algoritmo (MSCIR) para analizar 934 muestras de suero, las cuales pertenecen a pacientes sanos o que poseen VHB. Se emplea el análisis de componentes principales (PCA) para extraer la información característica de la espectroscopia Raman y reducir las dimensiones de los datos espectrales. En los resultados obtenidos de las muestras, se observa disminución en las bandas espectrales de la cisteína y la metionina (aminoácidos) debido a que esta enfermedad causa daños en el hígado.

Para validar que la técnica empleada (MSCIR) permite diagnosticar un paciente con VHB, los resultados fueron procesados en cinco algoritmos para analizar el porcentaje de predicción, los cuales son: el análisis discriminante lineal (LDA) 80.77%, k-nearest neighbor (KNN) 77.69%, máquinas de vectores soporte (SVM) 89.23%, bosque aleatorio (RF) 86.92% y red neuronal artificial (ANN) 91.53%. Al final del artículo se argumenta que el porcentaje de predicción para el sistema de espectroscopia Raman y el algoritmo (MSCIR) es del 96.15%, garantizando que es una técnica óptima para diagnosticar a un paciente VHB<sup>29</sup>.

#### **1.1.8. Espectroscopia Raman confocal de mano (CRS) en pacientes con dermatitis atópica (DA)**

Para el análisis de pacientes que sufren de dermatitis atópica se encuentra un estudio en la revista de ciencia dermatológica, donde se desarrolló el primer sistema de espectroscopia Raman confocal portátil (CRS), el cual permite categorizar a través del modelo support vector machine (SVM) a los pacientes sanos o con DA. La espectroscopia Raman fue aplicada a 30 pacientes con DA y 14 pacientes sanos, este funciona con un láser de 785 nm generando que cada medición tarde 10 s, la muestra se realiza de manera no invasiva y es tomada del antebrazo del paciente. Donde los factores que se analizan del espectro Raman son la humedad relativa y la pérdida de

---

<sup>28</sup> Boniface M. Chege, Zephania Birech, Peter W. Mwangi y Frederick O. Bukachi. Op. cit., p. 8.

<sup>29</sup> HongchunLu, ShengweiTian, LongYu, et al. Diagnosis of hepatitis B based on Raman spectroscopy combined with a multiscale convolutional neural network. Marzo del 2018. [consultado:19/05/2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924203119301997?via%3Dihub>

agua transepidérmica en la piel.

Con base a los resultados obtenidos, el sistema es capaz de clasificar el tipo de DA existen 3 tipos los cuales son: leve, moderada y severa. Por último, las métricas de evaluación para el sistema CRS utilizadas fueron discriminadas de la siguiente manera, siendo 1 la puntuación máxima: Exactitud 0.841, sensibilidad 0.857 y especificidad 0.833<sup>30</sup>.

#### **1.1.9. Espectroscopia Raman combinada con algoritmo para análisis y detección de insuficiencia renal crónica (IRC)**

Para la detección de IRC se encuentra un estudio realizado por Cheng Chen, Li Yang, Hongyi Li, Fangfang Chen, Chen Fangan, RuiGao, XY Lv, Jun Tang, quienes realizan un análisis de 54 muestras de sangre fresca en pacientes con IRC y pacientes sanos. Para obtener los datos espectrales Raman de las muestras, se usa un láser a 532 nm con una potencia de 50 mW que permite generar los resultados en 5 s. Con la ayuda de distintos tipos de análisis de componentes (PCA) se encontraron variaciones en la amida III, fosfolípidos y proteínas. El mejor modelo de clasificación fue PCA-GS-SVM, que tenía especificidad 78.6%, sensibilidad 100% y precisión 89.7%. La información obtenida en la espectroscopia de Raman, garantiza que se puede aplicar como un método para detección de IRC<sup>31</sup>.

#### **1.1.10. Espectroscopia Raman aplicada a una muestra de plasma sanguíneo para la detección de cáncer de seno**

En el análisis de sangre en personas con cáncer de seno el Departamento de Química de la Universidad de Agricultura Faisalabad, Pakistán, se empleó la espectroscopia Raman y análisis de datos multivariado (PCA) para establecer las características espectrales Raman de una persona que tiene cáncer de seno. El análisis fue aplicado a 18 pacientes con cáncer de mama y 8 pacientes sanos, se empleó un láser de 785 nm con fuente para tratar la adquisición de los datos del espectro Raman. Con la ayuda de PCA se logra visualizar las variaciones en el fosfato, tirosina, aminoácidos, citosina y guanina.

---

<sup>30</sup> Chris Jun Hui Ho, Yik Weng Yew, U.S. Dinish, et al. Handheld confocal Raman spectroscopy (CRS) for objective assessment of skin barrier function and stratification of severity in atopic dermatitis (AD) patients. Febrero 1 del 2020. [Consultado:19/05/2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/ucatalog/basesdedatos/proxy.com/science/article/abs/pii/S0923181120300463>

<sup>31</sup> Cheng Chen, Li Yang, Hongyi Li, et al. Raman spectroscopy combined with multiple algorithms for analysis and rapid screening of chronic renal failure. Abril 18 del 2020. [Consultado:19/05/2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1572100020301460?via%3Dihub>

Los autores obtuvieron que los resultados de las muestras poseen una sensibilidad del 99% y una especificidad del 100%, garantizando que la espectroscopía Raman con ayuda de PCA ha demostrado su potencial para ser utilizado para el diagnóstico de cáncer de mama en una etapa temprana, mediante el análisis de muestras de plasma sanguíneo<sup>32</sup>.

#### **1.1.11. Espectroscopia Raman para detectar y cuantificar la cocaína en el fluido oral presente en una persona**

Para la detección de la cocaína (COC) en el fluido oral (OF) se encuentra un estudio liderado por el Instituto Universitario de Investigación en Ciencia Policiales (IUICP), quienes implementan una prueba para detectar y cuantificar el nivel de COC en personas y que estas no se vean afectadas por factores como OF, por esto los autores proponen la espectroscopia Raman. En la investigación se realizan dos análisis, el primero consiste en conocer cuál es espectro Raman en una muestra de COC pura, donde se obtiene un espectro de ultravioleta a 239 nm y el segundo es ingresar la muestra de COC pura (que fue disuelta inicialmente en acetonitrilo), varias cantidades de la solución pura de COC se evaporan en el vacío durante 30 minutos a 25 ° C para eliminar el disolvente orgánico y luego es disuelta en los mismos volúmenes de OF. Los resultados obtenidos definen que la prueba arroja valores óptimos, si el valor de tolerancia máximo de concentración de COC en OF es de 10 µg/ml<sup>33</sup>.

#### **1.1.12. Análisis de la enfermedad tuberculosa mediante espectroscopía Raman combinada con el análisis de sueros sanguíneos**

En este antecedente del departamento de física del Colegio Universitario Islámico, en esta investigación se muestra la efectividad de la espectroscopía Raman combinado con el análisis de sueros sanguíneos obtenidos de personas con tuberculosis. En estas pruebas de sangre de 60 pacientes, se puede apreciar mediante estudios externos que los pacientes tienen tuberculosis pulmonar activa y se usaron 14 muestras de control de edad saludable en el presente estudio. Se adquirieron espectros de muestras de suero completas usando un sistema Raman láser de 785 nm. La máquina de vectores de soporte (SVM) junto con el análisis de componentes principales (PCA) se ha utilizado para resaltar las variaciones de las intensidades espectrales entre muestras sanas y patológicas. El modelo SVM que utiliza la base

---

<sup>32</sup> H.F. Nargis, H. Nawaz, A. Ditta, et al. Raman spectroscopy of blood plasma samples from breast cancer patients at different stages. Noviembre 5 del 2019. [Consultado:19/05/2020]. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1386142519306006>

<sup>33</sup> Valentina D'Elia, Gemma Montalvo, Carmen García Ruiz, et al. Ultraviolet resonance Raman spectroscopy for the detection of cocaine in oral fluid. Enero 5 del 2018. [Consultado:19/05/2020]. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S138614251730567X>

radial de Gauss puede llegar a determinar si las personas son sanas o enfermos basándose en las diferencias en la concentración de biomoléculas esenciales como lactato,  $\beta$ -caroteno y amida-I. la prueba posee una precisión del 92%. Este análisis es muy importante, ya que es un proceso poco invasivo y ayuda en la detección temprana de la enfermedad ayudando a realizar los tratamientos a tiempo<sup>34</sup>.

#### **1.1.13. Diferenciación entre etapas de enfermedades del hígado graso no alcohólico utilizando espectroscopía Raman de superficie mejorada**

La facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Macao muestra que la enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) es un trastorno que progresa desde una acumulación inicial benigna de grasa (NAFL) una forma degenerativa que puede provocar cirrosis hepática y cáncer. La espectroscopia Raman de superficie mejorada (SERS) de plasma se probó como un método para distinguir NAFL de esteatohepatitis (NASH). Los espectros SERS del plasma de pacientes femeninas diagnosticadas con NAFL. Las cifras promedio de mérito para una prueba de diagnóstico basada en estas proporciones, derivadas de una validación cruzada repetida de 4 veces de un modelo de regresión logística, obteniendo que todas están entre 0.73 y 0.79, con un área promedio bajo la curva de 0.81. Se concluye que SERS puede ser un método confiable y el método menos invasivo, rápido y preciso para diagnosticar si el hígado se encuentra enfermo y se vuelve más útil para los centros donde se apliquen las pruebas<sup>35</sup>.

#### **1.1.14. Tecnología de detección de suero rápida y no invasiva basada en espectroscopia Raman de superficie mejorada y análisis estadístico multivariado para enfermedad hepática**

Este estudio del Instituto de Medicina de Radiación de Beijing exploró una técnica de detección de enfermedad hepática rápida basada en la espectroscopía Raman de superficie mejorada (SERS) para realizar el diagnóstico oportuno, la prevención y el correspondiente tratamiento de esta enfermedad. Se realizaron pruebas de suero SERS de 304 individuos normales, 333 pacientes con hepatopatía y 99 pacientes con cáncer de esófago. Se procede a realizar diferentes análisis a las pruebas con distintos tipos de enfermedades para así poder sacar un análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales ortogonales (OPLS-DA). Posteriormente se hacen

---

<sup>34</sup> Saranjam Khan, Rahat Ullah, Shaheen Shahzad, et al. Analysis of tuberculosis disease through Raman spectroscopy and machine learning. Diciembre 24 del 2018. [Consultado:19/05/2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S138614251730567X>

<sup>35</sup> Elisa Gurian, Pablo Giraudi, Natalia Rosso, et al. Differentiation between stages of non-alcoholic fatty liver diseases using surface-enhanced Raman spectroscopy. Mayo 8 del 2020. [Consultado:19/05/2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/ucatalica.basesdedatos/proxy.com/science/article/abs/pii/S0003267020302300>

pruebas a las de clasificación a través de la característica de funcionamiento del receptor. La precisión de la prueba está entre el 81.76% y 95,33%, este método demuestra su eficiencia y al ser tratado de esta forma es menos invasivo<sup>36</sup>.

#### **1.1.15. Diagnóstico de la enfermedad de Chagas a partir de suero sanguíneo humano utilizando espectroscopia de dispersión Raman mejorada en superficie (SERS) y métodos quimiométricos**

La enfermedad de Chagas es una enfermedad que se transmite por medio de los animales que se alimentan de la sangre, la enfermedad causa daño en el corazón irrevocable, por esto surge la necesidad de no solo investigar los tratamientos terapéuticos sino también el desarrollo de métodos de diagnóstico oportunos. Existen muchas pruebas (sondas ELISA) para evitar el contagio de esta enfermedad en los donantes.

En la actualidad la Espectroscopia Raman se ha utilizado como una herramienta en el diagnóstico clínico y la investigación biomédica por su sensibilidad. La espectroscopia Raman propone la excitación de plasmones de superficie localizados en la superficie metálica, tanto el análisis de componentes principales (PCA) como el análisis discriminante lineal (LDA) son los métodos estadísticos más empleados en el tratamiento y la categorización de las variables. De este modo, PCA es el procedimiento más simple que permite transformar un conjunto de variables de observación correlacionadas, en un conjunto de variables linealmente no correlacionadas llamadas " componentes principales " que combinados con LDA permiten hallar una composición lineal de características que se han agrupado o separado en dos o más grupos para construir un modelo predictivo<sup>37</sup>.

#### **1.1.16. Detección de cáncer de próstata por espectroscopia Raman: un estudio multivariado en pacientes con valores normales y alterados de PSA**

La Facultad de Medicina, Universidad Federal de Bahía. Realiza un estudio sobre el examen de próstata mediante la Espectroscopia Raman ya que los otros métodos son muy invasivos, el examen rectal digital (DRE) tiene una alta variabilidad pues se basa

---

<sup>36</sup> Liting Shao PhD, Aiyang Zhang PhD, Zhen Rong PhD, et al. Fast and non-invasive serum detection technology based on surface-enhanced Raman spectroscopy and multivariate statistical analysis for liver disease. Febrero del 2018. [Consultado:19/05/2020]. Disponible en: [https://www.sciencedirect-com.ucatolica.basesdedatosezproxy.com/science/article/abs/pii/S1549963417302186](https://www.sciencedirect.com.ucatolica.basesdedatosezproxy.com/science/article/abs/pii/S1549963417302186)

<sup>37</sup> Angelli Pérez, Yuly A. Prada, Rafael Cabanzo, et al. Diagnosis of chagas disease from human blood serum using surface-enhanced Raman scattering (SERS) spectroscopy and chemometric methods. Noviembre del 2018. [Consultado:19/05/2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect-com.ucatolica.basesdedatosezproxy.com/science/article/pii/S2214180418300667>



varonilmente en la sensibilidad táctil y la experiencia del examinador. La prueba de antígeno prostático específico (PSA) se desarrolló inicialmente para la vigilancia del cáncer de próstata y con el tiempo se implementó más como un examen diagnóstico. La Espectroscopía Raman es una técnica analítica que puede medir los cambios bioquímicos causados por enfermedades, ya que estos cambios pueden conducir a variaciones contundentes en los espectros Raman.

Para esta prueba se recogieron 321 espectros de 108 sujetos. Se obtuvieron doscientos setenta y una muestras de PSA no alteradas y 51 espectros de 17 muestras con PSA alterado. Los análisis de PCA mostraron una sensibilidad del 87,41% y especificidad del 76,47%. La prueba PLS mostró una sensibilidad casi perfecta (98.51%) y una especificidad intermedia (62.75%). Este estudio preliminar sugiere que la Espectroscopía Raman podría usarse de manera eficiente para determinar posibles pacientes que a futuro puedan tener cáncer de próstata, así como para el seguimiento del tratamiento del cáncer de próstata utilizando inicialmente el PLS para identificar la posible presencia del cáncer de próstata y luego usar PCA para confirmar el diagnóstico<sup>38</sup>.

## 1.2. JUSTIFICACIÓN

La diabetes en la actualidad se ha convertido en un problema de salud pública que aqueja a más de 400 millones de personas en todo el mundo<sup>39</sup>. Ésta, de no ser controlada con el tiempo, podría llegar a generar grandes complicaciones que podrían causar un cambio en la calidad de vida e incluso de no ser tratada adecuadamente puede causar la muerte<sup>40</sup>.

Con el transcurso de los años se ha tratado de crear una cura para esta enfermedad, aunque no se ha obtenido resultados con éxito. Para tratar de curar esta enfermedad se han analizado todos los enfoques, tanto farmacológicos y no farmacológicos, pero sin lograr eliminar la hiperglucemia, aunque los tratamientos han evolucionado constantemente<sup>41</sup>.

---

<sup>38</sup> Neandder A. Correia, Lucas T. A. Batista, Roberto J.M, et al. Detection of prostate cancer by Raman spectroscopy: A multivariate study on patients with normal and altered PSA values. Marzo del 2020. [Consultado:19/05/2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/ucataloga.basesdedatos/proxy.com/science/article/abs/pii/S1011134419309601>

<sup>39</sup>Rubiya Khrusheed, Sachin Kumar, Sheetu Wadhwa, et al. Medium.Treatment strategies against diabetes: Success so far and challenges ahead. Noviembre 5 del 2019. [Consultado:19/03/2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014299919305771?via%3Dihub>

<sup>40</sup> Ibíd., p. 1.

<sup>41</sup> Ibíd., p. 5

El manejo de remedios naturales, tales como la dieta y el ejercicio diario, han sido muy importantes ya que permiten tener un mayor control sobre la diabetes. Ya a nivel farmacológico el tratamiento incluye un tratamiento oral que disminuye los niveles de glucemia, remedios naturistas y productos combinados. Gracias a los años de investigación se han logrado realizar avances tales como los sistemas de administración de nanoportadores en la gestión de medicamentos para mantener más controladas las insuficiencias que se generan tales como la escasa biodisponibilidad asociada con las formas de dosificación convencionales actualmente empleadas en el tratamiento de la diabetes<sup>42</sup>.

En este contexto, este trabajo de grado plantea estudiar una nueva técnica para el diagnóstico de la diabetes basada en la óptica, debido a que, a futuro, dicha técnica tiende a ser no invasiva para la detección de esta patología tan importante en el mundo. En otras palabras, la espectroscopía Raman es una técnica que por medio de la sensorica no va a requerir las punciones que se usan en las técnicas convencionales. Actualmente se emplean dos técnicas para la medición de los niveles de azúcar en la sangre, la cuales son prueba de hemoglobina glicada (A1C) y prueba de glucosa plasmática en ayunas (FPG), por lo tanto, se realiza una comparación de esta técnica con la base teórica referente a la espectroscopia Raman divulgada en la literatura sobre el análisis de las células de los glóbulos rojos de la sangre, debido a que la espectroscopia Raman puede ser aplicada como alternativa para mejorar este proceso, debido a que esta proporciona información sobre la estructura de las biomoléculas como aminoácidos, componentes hemo y marcadores sanguíneos.

Adicionalmente, es importante, como futuros ingenieros electrónicos y de telecomunicaciones, investigar e implementar nuevas técnicas (por ejemplo, Espectroscopia Raman), que permiten realizar un análisis teórico de las opciones que existen para detectar la diabetes en personas que padecen esta enfermedad y se hace necesario recopilar toda la información de esta técnica para futuras implementaciones.

### **1.3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En la actualidad, los dispositivos o sistemas relacionados con fotónica, generan un impacto fuerte en la evolución de la electrónica, debido a que la fotónica es una de las áreas en la que los ingenieros se encuentran trabajando fuertemente para implementar sistemas de telecomunicaciones más eficientes y dispositivos con respuestas en tiempo real con el fin de dar soluciones a muchos problemas sociales.

Por lo general la diabetes es una enfermedad donde los síntomas son poco notorios hasta que la persona experimenta complicaciones. Una vez diagnosticado se debe iniciar el tratamiento para esta enfermedad que no posee cura hasta el momento. Con la ayuda de medicamentos se puede conseguir un control adecuado, en el 2014

---

<sup>42</sup> Ibíd., p. 7.



según la organización mundial de la salud (OMS) más de 422 millones de personas sufrían de diabetes en el mundo<sup>43</sup>.

Las técnicas empleadas actualmente en el control de los niveles de glucosa en la sangre son: medición FPG y A1C. En el caso de la medición FPG se le pide al paciente que consuma un alimento y este debe esperar 3 horas para que se pueda tomar la muestra de sangre y la entrega de los resultados tendrá un plazo de 3 días. La A1C es una técnica más avanzada pues controla el porcentaje de glucosa que posee la persona en los últimos 3 meses, esta técnica es más costosa y requiere más tiempo de procesamiento<sup>44</sup>.

Con este contexto, se hace necesario analizar una técnica basada en la óptica, como lo es la Espectroscopia Raman, y validar que resultados se obtienen con esta técnica, así mismo este trabajo de grado busca comparar el nivel de glucosa en la sangre con los resultados existentes en la literatura. Este trabajo de grado plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿Cómo se realiza un análisis comparativo de la técnica de espectroscopia Raman para la detección de la diabetes a través de las células de glóbulos rojos de la sangre contra un experimento previamente realizado?

Aquí es importante mencionar que se analizó el cambio de intensidad en el espectro Raman de las biomoléculas de la sangre, contra los resultados divulgados en el artículo denominado "Application of near-infrared laser tweezers Raman spectroscopy system for label-free analysis and differentiation of diabetic red blood cells"<sup>45</sup>.

Adicionalmente con este análisis se responde a la pregunta ¿cuáles son las etapas de la Espectroscopia Raman?, las ventajas y desventajas que presenta esta técnica con respecto a otras convencionales para el diagnóstico de diabetes.

## **1.4. OBJETIVOS**

### **1.4.1. Objetivo general**

Contrastar la técnica de espectroscopia Raman para la detección de la diabetes a través de las células de glóbulos rojos de la sangre con pruebas de laboratorio que

---

<sup>43</sup> Neandder A. Correia, Lucas T. A. Batista, Roberto J.M, et al. Op. cit., p.2.

<sup>44</sup> Medina Organización Mundial de la Salud. Diabetes. Mayo 15 del 2020. [Consultado:19/05/2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>

<sup>45</sup> Jynyogn Lin, Lingdong Shao, Sufang Qiu. Application of near-infrared laser tweezers Raman spectroscopy system for label-free analysis and differentiation of diabetic red blood cells. 2018. [Consultado: 06/10/2020]. Disponible en: <https://n9.cl/q99rw>

permitan explicar dicha técnica.

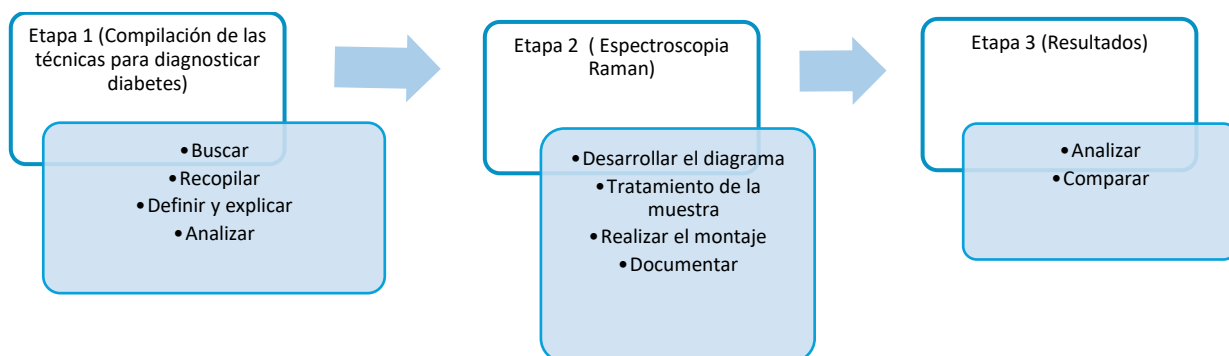
#### 1.4.2. Objetivos específicos

- Compilar las diferentes técnicas para realizar diagnóstico de Diabetes mediante análisis de sangre.
- Describir las etapas de la espectroscopia Raman para el diagnóstico de la diabetes.
- Reproducir la espectroscopia Raman como técnica de detección de la diabetes mediante el desarrollo experimental en el laboratorio.
- Comparar las pruebas realizadas de la Espectroscopía Raman con la base teórica referente a la espectroscopia Raman divulgada en la literatura sobre el análisis de las células de los glóbulos rojos de la sangre.

### 1.5. METODOLOGÍA

La metodología empleada en este trabajo de grado consta de 3 etapas, las cuales son graficadas en la figura 1 y se describen a continuación:

Figura 1. Diagrama metodología



Fuente: Autores.

#### Etapa 1

Esta etapa plantea las siguientes actividades articuladas con los dos primeros objetivos del trabajo de grado:

- Buscar información en documentos sobre técnicas para diagnosticar diabetes en la sangre.
- Recopilar la información encontrada en dichos documentos.
- Analizar las técnicas empleadas para diagnosticar diabetes en la sangre.
- Indagar las etapas de una espectroscopia de Raman en base de datos.
- Definir y explicar las etapas de una espectroscopia de Raman para el diagnóstico de la diabetes.

## Etapa 2

En esta etapa se plantearon las siguientes actividades correspondientes al objetivo específico 3:

- Desarrollar un diagrama en el que se evidencie el paso a paso para realizar una espectroscopia.
- Realizar el tratamiento correspondiente a la muestra (sangre), con el fin de eliminar los componentes de esta que no sean necesarios para el análisis de la espectroscopia.
- Realizar el montaje físico del laboratorio y familiarizarse con cada elemento que este posee.
- Documentar el proceso.

## Etapa 3

En esta etapa se plantearon las actividades descritas a continuación, para dar cumplimiento al objetivo específicos 4

- Recopilar resultados de análisis de otras pruebas del marco teórico.
- Comparar los resultados de la cantidad de glucosa encontrada en los glóbulos rojos obtenidos en las pruebas del análisis de sangre realizadas mediante el método de la Espectroscopia Raman con los resultados de la base teórica.

## 1.6. ALCANCES Y LIMITACIONES

- Por motivos de pandemia se presentaron dos inconvenientes en el desarrollo de este trabajo de grado. El primero la obtención de la muestra de sangre debido a que en tiempo de pandemia los laboratorios clínicos no pueden donar muestras de sangre y los protocolos de bioseguridad para el manejo de estas aumenta significativamente, ya que se requiere de un procedimiento para ser desactivada, es decir, que la sangre ya no pueda ser utilizada. De esta forma, se consiguió sólo una muestra de sangre en el Laboratorio del Hospital San Ignacio como se indica más adelante en este trabajo.

El segundo fue provocado por el sistema Raman de la Universidad Pontificia Javeriana ya que no se encontraba calibrado el día que se iba a realizar el procedimiento, lo que con lleva a buscar apoyo de la universidad Distrital para aplicar la técnica en la muestra de sangre, mientras se solucionaba el inconveniente con el sistema Raman de la Universidad Pontificia Javeriana. Adicionalmente, por trabajar con sangre humana, no es posible tener muchas muestras de sangre debido a que se requiere aprobación del comité de ética de la institución y consentimiento informado firmado por los donantes, lo que requiere más tiempo del concebido para el trabajo de grado.

- Analizar muestras de personas con diabetes. Este trabajo de grado está limitado a los consentimientos de las personas para recoger las muestras de sangre. Por lo tanto, en este trabajo de grado se analizará una sola muestra de sangre para dar un concepto de funcionalidad o prueba de concepto y comparar los resultados obtenidos en la espectroscopia en el laboratorio con los resultados obtenidos en el artículo<sup>46</sup>.
- Realizar el montaje adecuado del sistema para la realización de Espectroscopia Raman. Este trabajo de grado se realizó en el laboratorio de películas delgadas de la Universidad Pontificia Javeriana. Se contó con el apoyo del profesor Juan Carlos Salcedo de la Universidad Pontificia Javeriana.

## **1.7.MARCO REFERENCIAL**

### **1.7.1. Marco teórico**

#### **1.7.1.1.Diabetes**

Es una enfermedad que genera altos niveles de azúcar en la sangre, la glucosa procede de alimentos que consumimos, por lo tanto, la insulina tiene como objetivo distribuir esta de manera adecuada entre las células para que el cuerpo obtenga energía de esta. Las causas que puede generar dicha enfermedad son de mucho cuidado, ya que puede atacar a los vasos sanguíneos provocando daños en la visión, sed constante, agotamiento, aumento de apetito, bajo peso. Si no se realiza un seguimiento o se cumple con un tratamiento puede generar un infarto<sup>47</sup>.

Existen dos tipos de diabetes las cuales son las más comunes: diabetes tipo 1, tipo 2. La diabetes tipo 1 es más común en niños y jóvenes, se genera cuando el páncreas no supe la cantidad necesaria de insulina que el cuerpo requiere, generando que se deba suministrar al paciente insulina durante toda la vida para nivelar la azúcar presente en la sangre y controlar esta enfermedad. La diabetes tipo 2 más frecuente en las personas mayores de 35 años, se presenta porque el cuerpo no produce insulina o no usa bien la insulina, el cuerpo crea una resistencia a la insulina produciendo obesidad, daño en el corazón, riñones, nervios encías y dientes<sup>48</sup>.

---

<sup>46</sup> Application of near-infrared laser tweezers Raman spectroscopy system for label-free analysis and differentiation of diabetic red blood cells. Op. cit., p.6.

<sup>47</sup> MELLITUS, Diabetes. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes care, 2005, vol. 28, no S37, p. S5-S10.

<sup>48</sup> Ibid., p. 3.

### **1.7.1.2. Joseph von Fraunhofer (Padre de la espectroscopia)**

Fue el primer físico alemán en estudiar las líneas oscuras del espectro del Sol (actualmente se denominan líneas de Fraunhofer). Por otro lado, Fraunhofer fue el primero en utilizar la retícula de difracción, este es un dispositivo que se encarga de dispersar la luz de manera más eficaz que en un prisma. Con esto logra poner en marcha el desarrollo de la espectroscopia.

En 1814, inventó el espectroscopio. Cuando este se encontraba realizando mediciones de las propiedades de la luz en diversos tipos de vidrios, se dio cuenta de que había logrado observar líneas oscuras que provenían del espectro luminoso de una llama de sodio, por ende, este físico decide emplear dicha técnica para observar dicho espectro en los demás elementos químicos.

Por último, este físico se centró en estudiar en el espectro del sol y además fue el primero en ver el espectro de Sirius y otras estrellas de primera magnitud eran diferentes entre sí y respecto al Sol, dando paso a la espectroscopia estelar<sup>49</sup>.

### **1.7.1.3. Definición de Espectroscopia Raman**

Es una técnica fotónica que permite analizar de manera rápida la estructura química de cualquier elemento o material, ya sea orgánico o inorgánico. Esta técnica consiste en generar un haz de luz monocromático sobre la muestra, el cual incide sobre el material sin realizar ninguna alteración en este. Este haz de luz al chocar con la muestra genera que la luz se disperse generando diferentes espectros de frecuencia los cuales son tomados y analizados para así mismo obtener todas las características moleculares que tiene la muestra<sup>50</sup>.

### **1.7.1.4. Aplicaciones de la Espectroscopia Raman**

En la actualidad, la técnica de Espectroscopia Raman está siendo aplicada en diversos campos tanto de la investigación experimental como método de medición de los distintos componentes de una muestra, algunas de las aplicaciones para la Espectroscopia Raman son:

Industria Petroquímica: Se encarga de resolver los inconvenientes de control de calidad en polímeros y emulsiones, además permite resolver problemas de catalizadores o su contaminación.

---

<sup>49</sup>SÁNCHEZ FERNÁNDEZ, Juan Pedro. Efemérides: 1817. Joseph von Fraunhofer. Determinación del poder de refracción y dispersión del color de diferentes tipos de vidrio, en relación con el perfeccionamiento de telescopios acromáticos. Revista 100cias@ uned, Nueva época, 2017, vol. 10, p. 194-199.

<sup>50</sup> Capítulo 1: FUNDAMENTOS DE ESPECTROSCOPIA RAMAN. Op. cit., p.1.

Biomédicas: Se emplea para estudiar las proteínas y estructuras polipeptídicas en su estado natural. Además, se utiliza para la determinación de moléculas biológicamente activas.

Industria Alimentaria: Se emplea para detectar la presencia de proteínas, lípidos, carbohidratos y agua.

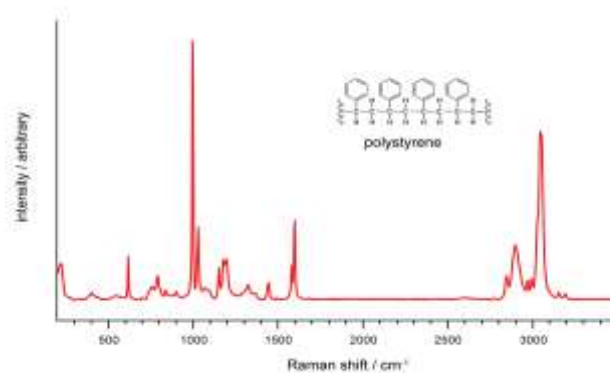
Medio Ambiente: Se usa para examinar compuestos orgánicos o inorgánicos en suelos y agua, para establecer las causas de contaminación de estos.

Análisis en polímeros: Estudio e identificación de la cristalinidad en polímeros<sup>51</sup>.

#### 1.7.1.5. Espectro Raman

Gráficamente, se ilustra la intensidad de la luz vs la energía (frecuencia) la cual es asociada a una longitud de onda. Para entender el espectro Raman en una muestra se debe entender que la fuente de excitación es un láser generando que las moléculas de la muestra entren en un estado de vibración y luego entre a un estado virtual para permitir una variación en la longitud de onda la cual va relacionado con la frecuencia, la Figura 2 evidencia dicho comportamiento<sup>52</sup>:

Figura 2. Espectro Raman



Fuente: Renishaw. Explicación de los Espectros Raman. [consultado: 19/03/2020]. Disponible en: <https://www.renishaw.es/es/explicacion-de-los-espectros-raman--25807>

<sup>51</sup> Ibid., p.17.

<sup>52</sup> Raman spectroscopy and its applications. Febrero del 2013.

[Consultado:09/03/2020]. Disponible en:

[https://www.researchgate.net/publication/328528060\\_Raman\\_spectroscopy\\_and\\_its\\_applications/figures?lo=1](https://www.researchgate.net/publication/328528060_Raman_spectroscopy_and_its_applications/figures?lo=1)

#### **1.7.1.6.Sangre**

La sangre se compone de una gran variedad de elementos, los cuales a través del sistema circulatorio se encargan de transportar el oxígeno y los nutrientes, que exige cada órgano del cuerpo humano para funcionar correctamente. El principal componente de la sangre es el plasma, este está compuesto un 90% de agua y un 10% de sales, azúcar (glucosa), colesterol, fosfolípidos, triacilgliceroles, glucosa, urea, ácido láctico, ácido úrico, creatinina y bilirrubina. La sangre también está compuesta por plaquetas que son las encargadas de que en caso de una herida la sangre se coagule.

En dicho 10% se encuentra los glóbulos rojos y glóbulos blancos, los RBC se componen por hemoglobina que permite el transporte de oxígeno desde los pulmones hasta cada rincón de cuerpo para poder producir energía y a su vez transportar de regreso el dióxido de carbono producido en este proceso, la hemoglobina se compone de 4 grupos llamados “heme” y en su centro se encuentra un átomo compuesto por hierro y una parte de “globina” que es una proteína llena de numerosos aminoácidos y los glóbulos blancos tienen como función controlar las infecciones y el sistema inmunitario.<sup>53</sup>

### **1.8.IMPACTO**

El análisis de la espectroscopia Raman, tiene como fin estudiar una técnica nueva que pueda ser empleada en la salud, la cual puede causar impacto a nivel social y educativo, debido a la importancia de la detección oportuna de enfermedades como la diabetes, que requieren de un control frecuente y un tratamiento específico.

#### **1.8.1. Impacto social**

A futuro la espectroscopia Raman se implementará de forma no invasiva a través de sensores, lo que convierte a esta técnica en una novedad para ser estudiada. Adicionalmente con esta técnica se obtendrá información sobre las biomoléculas presentes en la sangre, para que un experto en el tema pueda analizar los resultados y dar un respectivo diagnóstico, con esto se permitirá obtener mucha más información sobre la sangre, para que un médico o un nutricionista pueda combatir mejor la enfermedad. El impacto social que tiene esta tesis es dar a conocer esta técnica a la comunidad, debido a que es escasamente conocida.

---

<sup>53</sup> Texas heart institute. La sangre. [Consultado: 28/09/2020]. Disponible en <https://www.texasheart.org/heart-health/heart-information-center/topics/la-sangre/>

### **1.8.2. Impacto educativo**

El impacto de esta tesis es aportar el primer documento de la Universidad Católica de Colombia que se base en el uso de una técnica fotónica denominada Espectroscopia Raman. Logrando dejar un punto de partida para futuros trabajos de grado que deseen continuar abordando sobre dicha técnica empleada en el análisis de una muestra sangre con sus respectivos protocolos. Además, esta técnica abre una gran variedad de posibles investigaciones a futuro y permite la unión con otros trabajos de grado que traten temas sobre la salud.



## **2. TÉCNICAS PARA REALIZAR DIAGNÓSTICO DE DIABETES MEDIANTE ANÁLISIS DE SANGRE**

En este capítulo se aborda de manera más detallada información necesaria para comprender la definición, para qué sirve, cómo se aplica, ventajas y desventajas de las técnicas empleadas para el diagnóstico de diabetes en la sangre.

### **2.1. PRUEBA DE HEMOGLOBINA GLUCOSILADA (A1C)**

En esta prueba se determina un promedio del nivel de glucosa presente en la sangre en los últimos 2 a 3 meses, estas se realizan seguido para observar que los niveles de azúcar en la sangre se han constantes o se encuentre en los límites normales, dicha prueba no es la idónea para realizar el diagnóstico de la diabetes ya que existen muchos factores tales como la pérdida de sangre, el embarazo, uso de medicamentos o hemodiálisis entre otros que afectan la vida de los glóbulos blancos.

La prueba A1C muestra los resultados como un promedio de glucosa en la sangre en relación con el tiempo, el ideal es mantenerlo lo más cerca posible al nivel dicho por el médico de cada paciente<sup>54</sup>.

#### **2.1.1. Ventajas y desventajas**

1. Al ser una prueba sanguínea y realizarse en ayunas tiene una mayor exactitud al no tener todas las variables que se pueden presentar por la ingesta de alimentos.
2. Proporciona una visión más completa de la medición de la glucemia.
3. Ayuda en el ajuste al tratamiento que se esté siguiendo.
4. El paciente no puede consumir alimentos por lo menos de 8 a 12 horas antes de tomarse la prueba.
5. Puede requerir una prueba de tolerancia a la glucosa para el diagnóstico de diabetes.<sup>55</sup>

---

<sup>54</sup>EL PERSONAL DE HEALTHWISE. CIGNA. ¿QUE ES A1C?. 19 DE DICIEMBRE DEL 2019. [Consultado: 30/08/20]. DISPONIBLE EN <https://www.cigna.com/individuals-families/health-wellness/hw-en-espanol/temas-de-salud/que-es-la-a1c-ug1181abc>

<sup>55</sup> Dra. Marta Papponetti. Intramed. La HbA1C como método diagnóstico de diabetes. 08 de diciembre del 2009. [Consultado: 30/08/2020]. Disponible en: <https://www.intramed.net/contenido.asp?contenido=63046>

### 2.1.2. Método

1. Extraer sangre directamente de la vena, esto se realiza en un laboratorio.
2. Se extrae sangre de un dedo, este se puede realizar ya sea en un laboratorio como en la casa con el equipo adecuado.<sup>56</sup>

### 2.1.3. Procedimiento

El procedimiento es el siguiente<sup>57</sup>.

1. Limpiar la piel
2. Realizar un torniquete en el brazo para que la vena se hinche de sangre
3. Insertar la aguja en la vena
4. Se deposita la sangre en el frasco de muestras
5. se retira el torniquete y se quita la aguja

### 2.1.4. Valoración de la prueba

Normal: menos de 57% y corresponde a valores menores a 110 mg/dl.

Prediabetes: entre 57% y 64% y corresponde entre 110 a 130 mg/dl.

Diabetes: más de 64%<sup>58</sup> y corresponde a valores mayores a 130 mg/dl.

## 2.2. PRUEBA DE GLUCEMIA CAPILAR

La prueba de glucemia capilar es una prueba que permite saber la abundancia de azúcar coexistente en la sangre, con ayuda de una muestra pequeña tomada de los vasos capilares. Usualmente se toman en un dedo del paciente o en el lóbulo de la oreja<sup>59</sup>.

---

<sup>56</sup> Dr. Tango. Medline plus. Examen A1c. 17 de mayo del 2018. [Consultado: 30/08/2020]. Disponible en:

<https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/003640.htm>

<sup>57</sup> KidsHealth. Análisis de sangre: hemoglobina A1c. [Consultado: 27/09/2020]. Disponible en: <https://kidshealth.org/es/parents/blood-test-hba1c-esp.html>

<sup>58</sup> National institute of diabetes and digestive and kidney diseases. La prueba de A1C y la diabetes. Abril de 2019. [Consultado: 27/09/2020]. Disponible en: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/informacion-de-la-salud/diabetes/informacion-general/pruebas-agnostico/prueba-a1c-diabetes#:~:text=La%20prueba%20de%20A1C%20mide,de%20glucosa%20en%20a%20sangre>

<sup>59</sup> Significados. Significados de glucemia. 2013. [Consultado: 30/08/2020]. Disponible en:

<https://www.significados.com/glucemia/#:~:text=La%20glucemia%20basal%20es%20el,y%20despu%C3%A9s%20del%20descanso%20nocturno>

### **2.2.1. Ventajas y desventajas**

1. Si no se realiza bien la prueba puede generar hemorragia y hematomas en los pacientes.
2. Tener cuidado cuando realice el pinchazo, porque esto podría generar lesiones de tejidos blandos.
3. Es una prueba fácil, sencilla y rápida para observar el nivel de azúcar en la sangre<sup>60</sup>.

### **2.2.2. Método**

1. Primero el paciente debe limpiar muy correctamente las manos con agua y jabón, con ayuda de un algodón humedecido en alcohol limpiar la parte lateral del dedo en donde se aplicará la prueba.
2. Esperar que se seque por completo las manos para tomar la muestra, es importante que las lancetas del dispositivo (Glucómetro) sean nuevas.
3. Retirar la tira reactiva y realizar la operación quirúrgica generando que el elemento afilado y puntiagudo, con el fin de dar un pinchando el dedo, para conseguir la gota de sangre para analizar.
4. Esperar unos minutos los resultados de la cantidad de azúcar que detectó el Glucómetro y anotarlos en una hoja de registro<sup>61</sup>.

### **2.2.3. Procedimiento**

El procedimiento es el siguiente<sup>62</sup>:

1. Se usa un pinchador para sacar una gota de sangre del dedo del paciente.
2. Luego se pone dicha gota de sangre en la tira reactiva.
3. Esperar unos minutos mientras el glucómetro muestra el nivel de glucosa.
4. Tomar nota del valor de glucosa para llevar control de esta.

---

<sup>60</sup> E.S.E Hospital Nuestra Señora del Carmen del Colegio. Protocolo de glucometría capilar. 2018, p. 9.

<sup>61</sup> FRENK, J., et al. Manual de procedimientos para la toma de medidas clínicas y antropométricas en el adulto y adulto mayor. México: Secretaría de Salud, 2002, p. 25.

<sup>62</sup> SJD hospital de Barcelona. Control de glucosa. 26/02/2019. [Consultado: 30/08/2020]. Disponible en: <https://diabetes.sjdhospitalbarcelona.org/es/diabetes-tipo-1/debut/como-realizar>

#### **2.2.4. Valoración de la prueba**

Positiva: Si el dato obtenido por el instrumento es superior o igual a 100 mg/dl en ayunas o 140 mg/dl en condiciones de alimentación normal es necesario asistir al médico, con el fin de que se le practique una prueba más eficiente.

Negativa: Valor menor a 100 mg/dl, el paciente puede estar tranquilo y tomar de nuevo la prueba en un año <sup>63</sup>.

#### **2.3. GLUCOSA PLASMÁTICA EN AYUDANAS (FPG)**

La prueba FPG le indica al paciente si el nivel de glucosa en la sangre se encuentra dentro de los niveles normales, esta se usa para mantener un monitoreo de la diabetes y la prediabetes. Los resultados de esta prueba pueden variar dependiendo de la edad, género, historial médico, entre otros factores.<sup>64</sup>

##### **2.3.1. Ventajas y desventajas**

1. Sus resultados son muy variados de un laboratorio a otro.
2. Requiere realizar la prueba varias veces para corroborar resultados.
3. Comúnmente usado en personas mayores de 45 o que han poseído síntomas de diabetes o tengan el riesgo de sufrir de diabetes.

##### **2.3.2. Método**

1. El paciente no debe comer durante 8 horas.
2. Se extrae sangre del paciente de la forma menos invasiva.<sup>65</sup>

##### **2.3.3. Procedimiento**

1. Se toma una muestra inicial de sangre en ayunas
2. Luego el paciente debe ir a desayunar como acostumbra. Debe saber la hora exacta en la que terminó de desayunar para realizar el post.

---

<sup>63</sup> Ibid., p. 8.

<sup>64</sup> UC San Diego Health. Glucosa (en sangre). Enero 2017. [Consultado 30/08/20]. Disponible en:

[https://myhealth.ucsd.edu/Spanish/RelatedItems/167.glucose\\_blood\\_ES](https://myhealth.ucsd.edu/Spanish/RelatedItems/167.glucose_blood_ES)

<sup>65</sup> Daniel Towns. Disciplined. La prueba de glucosa en plasma en ayunas. Febrero 2020. [Consultado 30/08/2020]. Disponible en:

<https://disciplined.com/compreension-de-la-prueba-de-glucosa-en-plasma-en-ayunas/>

3. Después de dos horas se le toma una segunda muestra, con el fin de analizar el cambio del azúcar presente en la clase cuando el paciente ingiere alimentos<sup>66</sup>.

#### **2.3.4. Valoración de la prueba**

1. Si el nivel de glucosa en FPG es menor de 100 mg/dl, la persona se encuentra sana.
2. Si el nivel de glucosa en FPG se encuentra entre los valores entre 100 mg/dl hasta 126 mg/dl son un diagnóstico de prediabetes.
3. Si el nivel de glucosa en FPG es igual o mayor a 126 mg/dl, la persona sufre de diabetes.

Si el nivel de glucosa es superior a 180 mg/dl indica riesgo de diabetes y a su vez se presentan otros riesgos como:

1. Enfermedades en los riñones
2. Hipertiroidismo
3. Pancreatitis
4. Cáncer pancreático

Si el nivel de glucosa está entre 100 mg/dl y 126 mg/dl podría ser síntoma de:

1. Hipertiroidismo
2. Demasiada insulina
3. enfermedad del hígado<sup>67</sup>

#### **2.4.PROTOCOLO DE LA SANGRE EN TÉCNICAS CONVENCIONALES**

La sangre del cuerpo humano se compone por una solución acuosa de sales y proteínas “plasma”, mediante el plasma se transportan los glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas, leucocitos y eritrocitos. Dependiendo del tipo de análisis que se

---

<sup>66</sup> Clínica Antofagasta Laboratorio Pukara. Glicemia y/o insulina Basal y post prandial. [Consultado:30/08/2020]. Disponible en: [https://www.clinicaantofagasta.cl/clinica\\_antofagasta/site/artic/20150626/asocfile/20150626111450/cla\\_glicemia\\_insulina\\_basal\\_y\\_ppd.pdf](https://www.clinicaantofagasta.cl/clinica_antofagasta/site/artic/20150626/asocfile/20150626111450/cla_glicemia_insulina_basal_y_ppd.pdf)

<sup>67</sup> Medlineplus información de salud para usted. Prueba de glucosa en la sangre. Marzo de 2020. [Consultado: 27/09/2020]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/pruebas-de-laboratorio/prueba-de-glucosa-en-la-sangre/>

desee realizar se utilizarán diversos componentes de la sangre y estos se conservaran a temperaturas variadas<sup>68</sup>.

1. Hematíes 4C°-6C°.
2. Plasma -25C°.
3. Plaquetas 22C°.

#### **2.4.1. Preparación**

Como el objetivo de la prueba en sangre es la detección de diabetes, se analizará la glucosa presente en dicha muestra. La glucosa está compuesta por 6 carbonos e hidroxilos. En las técnicas convencionales de diagnóstico de la diabetes, se puede medir la cantidad de glucosa en el suero o directamente en los glóbulos rojos. Para realizar el proceso de separación del suero y los glóbulos rojos se debe poner a temperatura ambiente la muestra para que esta experimente una coagulación espontánea la cual se encuentra en un tubo, por lo general de vidrio, ya que en este no se ha agregado anticoagulante, después dicha muestra se centrifuga con el fin de separar los hemo componente y obtener solamente los glóbulo rojos en la muestra de sangre, la cual se ha introducido junto con diversas soluciones para dejar la muestra solo con los componentes que se desean analizar<sup>69</sup>.

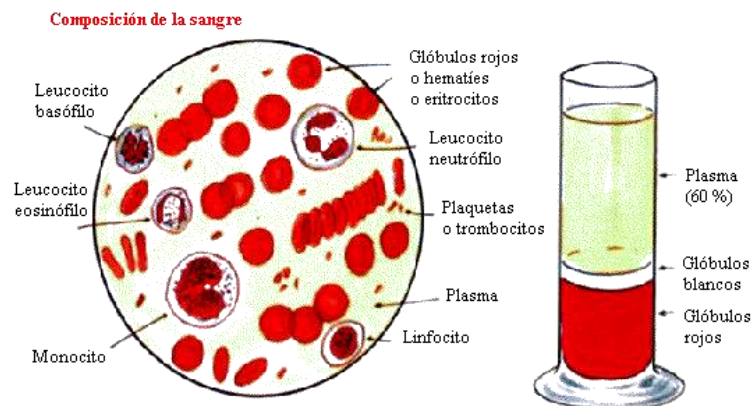
En la figura 3, se muestra más claramente la ubicación de cada componente que tiene la sangre, estos componentes son: leucitos, monocitos, glóbulos rojos, plaquetas, plasma y linfocitos. Además, esta figura representa una muestra de sangre en un tubo anticoagulante EDTA, donde se evidencia que parte de la sangre es el suero, los glóbulos blancos y los glóbulos rojos, es importante conocer la separación cuando se desea aplicar un análisis en una muestra de sangre.

---

<sup>68</sup> Banco de sangre y tejidos de Aragón. Procesamiento de la sangre. [Consultado 27/09/2020]. Disponible en: <https://www.bancosangrearaagon.org/procesamiento-de-la-sangre/?cn-reloaded=1>

<sup>69</sup> AV6 técnicas diagnósticas. Procesado de muestras de sangre en el laboratorio de la clínica. [Consultado: 06/10/2020]. Disponible en: [http://axonveterinaria.net/web\\_axoncomunicacion/auxiliarveterinario/41/AV\\_41\\_Procesado\\_de\\_sangre.pdf](http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/auxiliarveterinario/41/AV_41_Procesado_de_sangre.pdf)

Figura 3. Composición de la sangre



Fuente: Anatomía humana. Anatomía de sistema cardiovascular. [Consultado: 10/11/2020]. Disponible en: <http://www.anatomiahumana.ucv.cl/morfo2/sangre.html>

La mayoría de las técnicas convencionales empleadas para diagnosticar la diabetes en la sangre se analizan directamente del suero, esto se logra empleando el concepto de absorbancia<sup>70</sup>, el cual se relaciona directamente con la muestra debido a que el objetivo de este es indicar la cantidad de luz que absorbe esta. Por lo tanto, se debe agregar pruebas enzimáticas para permitir visualizar la concentración de azúcar en la sangre con ayuda de la absorbancia, luego se aplica una regla de 3 simple con el fin de encontrar cuantos miligramos por decilitro (mg/dl) de glucosa se encuentran presentes en la sangre.

## 2.5. TABLA COMPARATIVA DE LAS TÉCNICAS CONVENCIONALES PARA EL ANÁLISIS DE LA DIABETES

En este apartado se recopiló la información más relevante de las técnicas convencionales para el diagnóstico convencional de diabetes como lo son: A1C, FPG y glucemia capilar. El valor de exactitud y precisión de la prueba A1C y FPG fue tomado de un artículo<sup>71</sup> de investigación sobre la diabetes tipo II.

<sup>70</sup> Nieves Abril Díaz, J. Antnio Bárcena, Emilio Fernandez Reyes. Espectrofometria: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. [Consultado: 06/10/2020]. Disponible en: [https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08\\_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf](https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf)

<sup>71</sup> J. Jimeno Mollet, N. Molist Brunet, J. Franch Nadal. Diagnosticando la diabetes mellitus tipo 2: en atención primaria, con la glucemia basal y la hemoglobina glucosilada es suficiente. [Consultado: 10/10/2020]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/en-revista-atencion-primaria-27-articulo-diagnosticando-diabetes-mellitus-tipo-2-13066409>

En la tabla 1, se presenta una comparación de las técnicas convencionales para el diagnóstico de la diabetes, donde se observa que la prueba A1c y FPG manejan una misma precisión y exactitud en el análisis aplicado a la muestra de sangre y también se encuentra similitud en los valores de diagnóstico. Sin embargo, las diferencias entre estas dos técnicas son: tipo de muestra y periodo de espera para obtener los resultados, en el caso de A1c el tipo de muestra requerida para aplicar el análisis es RBC y el tiempo de obtención de resultados es de 1 día y en FPG el tipo de muestra es plasma o suero y se demora entre 1 a 3 días la obtención de resultados.

Estas técnicas son ampliamente empleadas para el diagnóstico de la diabetes en Colombia y en el mundo, sin embargo, la precisión y la exactitud no es tan elevada.

Tabla 1. Comparación de técnicas convencionales para diagnóstico de diabetes mediante análisis de sangre

Nombre de la técnica convencional	Tipo de muestra	Precisión y exactitud	Valores de diagnósticos (mg/dl)	Periodo de espera para obtener los resultados
A1c	Glóbulos rojos	$r = 0.72$	Normal: menor a 110 Prediabético: 110 a 130 Diabético: mayor a 130	1 día
FPG	Plasma o suero	$r = 0.72$	Normal: menor a 100 Prediabético: 100 a 126 Diabético: mayor a 126	1-3 días
Glucemia capilar	Plasma o suero	Depende del dispositivo empleado para tomar la muestra	Normal: menor a 100 Prediabético: N/A Diabético: mayor a 100	5-10 segundos

Fuente: El autor.

En el anterior análisis se comparó las dos técnicas más empleadas, sin embargo, en la tabla 1, también se puede observar las características de la técnica de glucemia capilar, dicha técnica logra obtener resultados más rápidos, ya que se demora entre 5 a 10 segundos, en cuanto al tipo de muestra es igual que FPG, no obstante, su precisión y exactitud se encuentran ligadas al dispositivo empleado para obtener la muestra.

## 2.6. ESPECTROCOPIA RAMAN

Entre unas de las técnicas empleadas para la detección de la diabetes en la sangre se encuentra la espectroscopia Raman, esta técnica se encarga de analizar el espectro Raman, dichos picos son enunciados como (cm-1), con el fin de identificar las componentes encontradas en la sangre.



### **2.6.1. Ventajas y desventajas**

Entre sus ventajas y desventajas encontradas en la literatura se describen las siguientes <sup>72</sup>:

1. Permite la preparación de la muestra.
2. Se obtiene un espectro con buena resolución
3. Resultados con pronta respuesta, esta técnica se realiza en tiempo real.
4. Produce baja dispersión Raman en la muestra.

### **2.6.2. Método**

La Espectroscopia Raman permite medir la cantidad de glucosa que se encuentra en la sangre, en muchos artículos aplican esta técnica en muchas muestras con el fin de observar un patrón estándar y calibrar el sistema hasta encontrar la diferencia entre un espectro de una persona sana y una con diabetes.

### **2.6.3. Procedimiento**

Para realizar la espectroscopia Raman se utilizan los siguientes materiales: láser de helio-neón, láser de argón, fibra óptica de excitación y colección, cabezal óptico, filtro de interferencia, espejo dicróico, lente de focalización, filtro notch, monocromador, CCD (Charge Coupled Device), sistema informático e incorporación del láser infrarrojo.<sup>73</sup>

Esta técnica básicamente consiste en inducir un haz de luz generado por un láser en una longitud de onda de operación de 400-800 nm. Este rango de longitud de onda permite ver completamente el espectro de una muestra de sangre que en números de onda se encuentra entre 400 cm<sup>-1</sup> hasta 1800 cm<sup>-1</sup>. Una vez que incide el rayo de luz en la muestra este choca y se genera una reflexión, donde se obtiene el haz que se necesita para el análisis de diagnóstico de una persona con diabetes y con ayuda de un espectrómetro se puede captar las características o propiedades que se desean determinar y examinar de dicho espectro.

### **2.6.4. Valoración de la prueba**

#### **2.6.4.1. En suero**

El suero al que se le aplicará el espectro Raman se refrigera a -189°C utilizando nitrógeno líquido, se realizan varias espectroscopias a la muestra para tener estadísticamente un muestreo, para realizar el espectro Raman se coloca una gota

---

<sup>72</sup> Gabriela I. Lacconi. Fundamentos y aplicaciones de la espectroscopia Raman en sistemas electroquímicos. [ Consultado: 06/10/2020]. Disponible en:

<http://faa.unse.edu.ar/apuntes/analinst/raman.pdf>

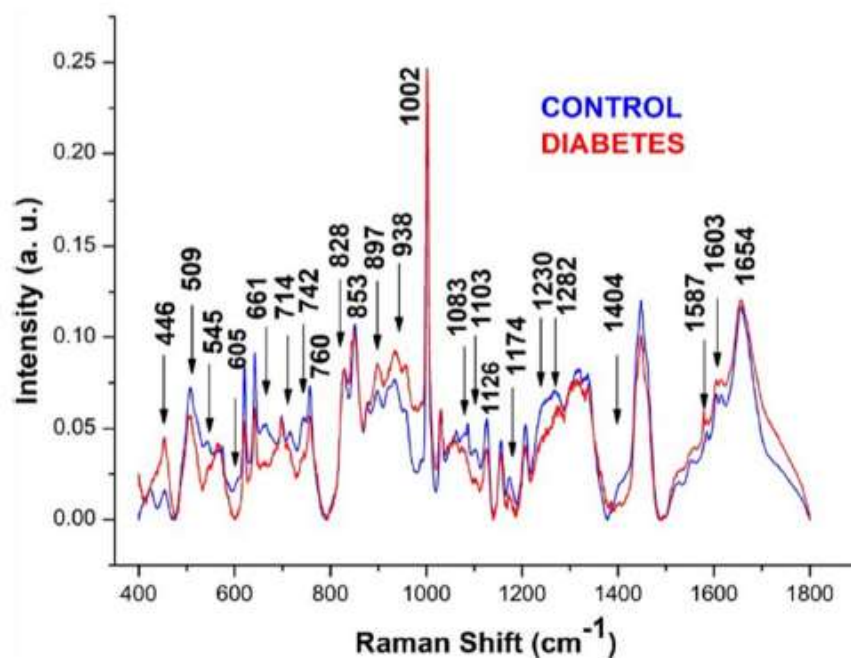
<sup>73</sup> Capítulo 1: FUNDAMENTOS DE ESPECTROSCOPIA RAMAN. Op. cit., p.30.

de suero sobre un sustrato de aluminio se examina con un microscopio conectado al sistema Raman.

Los espectros obtenidos se procesan para hacer la corrección de la línea base y normalizar el ruido, luego se analiza mediante el PCA y después se calcula el espectro medio de cada muestra para obtener los datos bioquímicos generales y así obtener los pequeños datos independientes conocidos como componentes principales (PC). Analizando estos datos en la aplicación LDA para saber si la muestra es de una persona diabética o sana.

En la figura 4 se ilustra el espectro del suero de control, donde se observa la presencia de mayores cantidades de carotenoides indicada por picos a 1002, 1160 y 1523  $\text{cm}^{-1}$  y picos intensos asociado con componentes proteicos en 853, 938, 1002, 1300 a 1345, 1447, 1550, 1620 y 1654  $\text{cm}^{-1}$ . Las principales diferencias entre la diabetes y los espectros de control se observaron con fuertes incrementos en la intensidad de control, en las demás zonas de la medición se observa que sufre variaciones, pero no tan notorias como las mencionadas anteriormente.

Figura 4. Espectro Raman en suero

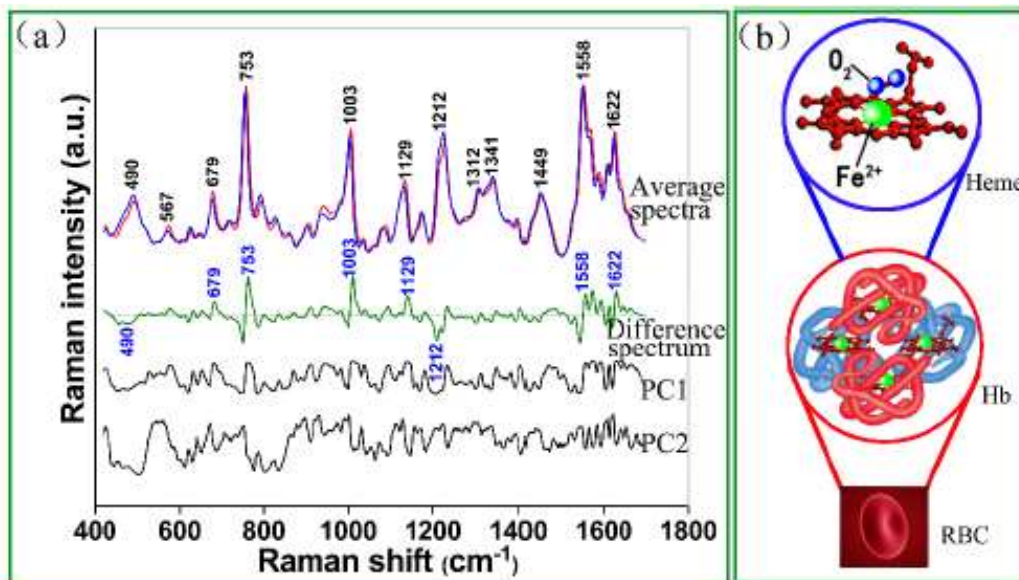


Fuente: J. L. Gonzalez-Solis, J. R. Villafan-Bernal, B. E. Martinez-Zerega, S. Sanchez-Enriquez. Type 2 diabetes detection based on serum sample Raman spectroscopy. Mayo 17 del 2018. [Consultado:19/03/2020]. Disponible en: <https://n9.cl/ydkf>

#### 2.6.4.2.En RBC

Como se puede observar en la Figura 5, se muestra cuáles son los picos característica entre una persona sana y una con diabetes analizado en los glóbulos rojos, las intensidades del espectro Raman donde se denotan claramente la variaciones entre ambos caso se observa en : 679 (modo de deformación simétrica de porfirina), 753 (modo de vibración de respiración de porfirina), 1003 (fenilalanina), 1129 (modo de estiramiento C $\beta$ -metilo), 1558 (modo de estiramiento C $\beta$ C $\beta$ ) y 1622 cm<sup>-1</sup> (C = C vinilo y Ca = C $\beta$  modo de estiramiento), y los disminuidos en 490 (modo de estiramiento S-S) y 1212 cm<sup>-1</sup> (modo de flexión CmH), donde la señal del espectro azul representa la persona sana y la roja denota una persona con diabetes tipo II. Además, se observa que las variaciones son muy pequeñas según el artículo la máxima variación encontrada entre dichos espectros equivale a ( $p < 0,05$ ).

Figura 5. Espectro Raman



Fuente: Jynyogn Lin, Lingdong Shao, Sufang Qiu. Application of near-infrared laser tweezers Raman spectroscopy system for label-free analysis and differentiation of diabetic red blood cells. 2018. [Consultado: 06/10/2020]. Disponible en: <https://n9.cl/q99rw>

## **2.7.COMPARACION DE LAS TECNICAS CONVENCIONALES CON LA ESPECTROSCOPIA RAMAN**

La Espectroscopia Raman tiene ventajas con respecto a las técnicas convencionales como se evidencia en la tabla 2. Una de ellas es el tipo de muestra, debido a que esta técnica se puede aplicar en glóbulos rojos y plasma o suero, lo que permite emplear los dos tipos de tratamientos en la muestra que se desea analizar. Aunque la técnica se basa en un espectro de frecuencias denominado Espectro Raman, donde solo se permite evaluar la variación de intensidades que experimentan los números de onda (picos característicos) con el fin de lograr diferenciar si una persona padece o no de diabetes.

Las desventajas que tiene la técnica espectroscopia Raman con respecto a las técnicas convencionales, se evidencia en los valores de diagnóstico debido a que estas técnicas no solamente diagnostican si es diabética o no, sino que a su vez muestran la cantidad de glucosa presente en la sangre, debido a que los valores ya son estándares mientras que la espectroscopia Raman tiene que mirar cambios en los picos característicos que tienen las longitudes de onda correspondientes a componentes de la glucosa.

Tabla 2. Comparación de técnicas para el diagnóstico de diabetes

	A1C	FPG	Glucemia capilar	Espectroscopia Raman
Tipo de muestra	Glóbulos rojos	Plasma o suero	Plasma o suero	Glóbulos rojos y plasma o suero
Tipo de análisis	Cantidad de hemoglobina en la sangre	Nivel de glucosa	Nivel de azúcar en la sangre	Variaciones de la intensidad Raman en los picos característicos
Valores de diagnóstico	Normal: menor a 110 mg/dl Prediabético: 110 a 130 mg/dl Diabético: mayor a 130 mg/dl	Normal: menor a 100 mg/dl Prediabético: 100 a 126 mg/dl Diabético: mayor a 126 mg/dl	Normal: menor a 100 mg/dl Prediabético: N/A Diabético: mayor a 100 mg/dl	Se analizan las variaciones en los picos característicos 490, 567, 679, 753, 1003, 1129, 1212, 1558 y 1622 cm <sup>-1</sup> .
Tipo de tratamiento de la muestra	Se centrifuga la muestra a 3000 rpm, durante 3 a 5 minutos y luego se lavan los RBC con suero fisiológico	Se centrifuga la muestra a 3000 rpm, durante 3 a 5 minutos	La muestra es colocada en la tira reactiva del glucómetro, luego se aplica un micro voltaje en esta para que se mezcle las enzimas con la gota de sangre, generando electrones, los cuales son medidos por electrodos que envían una micro corriente al medidor	En RBC: se centrifuga la muestra a 3000 rpm, durante 3 a 5 minutos y luego se lavan los RBC con suero fisiológico  En plasma o suero: Se centrifuga la muestra a 3000 rpm, durante 3 a 5 minutos
Limitaciones	<ul style="list-style-type: none"> <li>Resultados no eficientes en pacientes que sufren anemia, hemoglobinopatías e insuficiencia renal</li> <li>Los resultados de las pruebas aplicadas a personas de origen étnico no son confiables</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Los resultados pueden variar dependiendo del tratamiento que realice el laboratorio</li> <li>En caso de embarazo no se podrá realizar la prueba</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Puede verse afectada por el volumen de la gota de sangre</li> <li>En la medición pueden interferir la vitamina e, cisteína y tiempo desde la última comida</li> <li>Factores ambientales (temperatura, humedad y altitud)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Baja sensibilidad</li> <li>Se requieren múltiples muestras para calibrar la técnica <ul style="list-style-type: none"> <li>La fluorescencia de las muestras obstruye con los análisis</li> </ul> </li> <li>Los análisis son solo cualitativos</li> </ul>

Fuente: El autor.

Las limitaciones enunciadas en la tabla 2 que tiene las técnicas convencionales, se ven ligados en obstrucción para obtener resultados favorables, en el caso de la A1C el procedimiento no es confiable si se presenta en enfermedades como anemia, hemoglobinopatías e insuficiencia renal o en personas con origen étnico. En cuanto a la FPG es limitado aplicarlo en mujeres embarazada y sus resultados a su vez dependen de la forma en cómo se realice el tratamiento de la muestra y la glucemia capilar puede verse afectada por la cantidad de muestra ingresada en el glucómetro, factores ambientales o simplemente por concentración de vitamina e y cisteína. Mientras que la técnica de espectroscopia Raman no se ve afectada por la presencia de otras enfermedades, sino que sus limitaciones se ven más ligadas a las capacidades del sistema empleado.

### 3. ETAPAS DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN PARA EL DIAGNOSTICO DE LA DIABETES

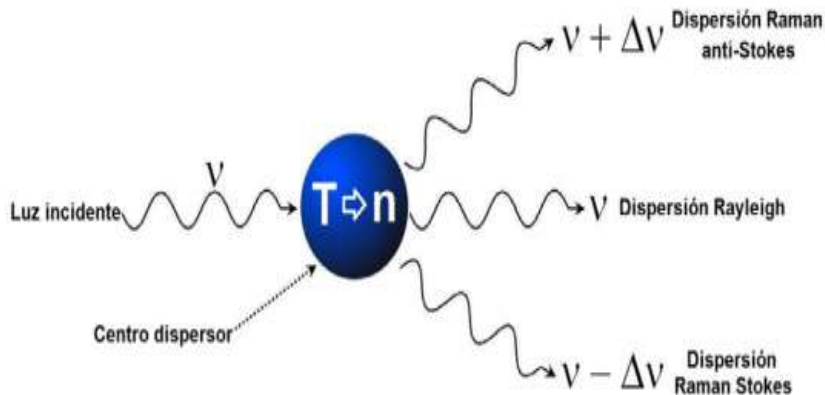
En este capítulo, se explica de manera detallada como está compuesto un sistema de espectroscopia Raman, las fases y elementos necesario para obtener el espectro Raman de un material.

#### 3.1. EXPLICACIÓN TÉCNICA ESPECTROSCOPIA RAMAN

Cuando el haz incide en una superficie, los fotones pueden ser afectados de la siguiente manera:

- ✓ Colisiones elásticas con los átomos de la muestra: consiste en que la muestra no genera cambios de frecuencia o intensidad, lo que evidencia que no cambian las características del haz incidente generando dispersión rayleigh (Figura 6), esto sucede porque las partículas tienen un valor mucho menor si se compara con la longitud de onda de la radiación, lo que impide obtener información de la composición de la muestra analizada.

Figura 6. Representación de los tres tipos de dispersión de luz



Fuente: Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. Octubre del 2013. División de Materiales avanzados. [consultado:19/03/2020]. Disponible en: <http://www.linan-ipicyt.mx/Manual%20de%20Raman.pdf>

- ✓ Colisiones inelásticas con los átomos de la muestra: En este caso se presenta traspaso de energía lo que genera que los fotones que inciden dentro de la muestra cambien de frecuencia esto se denomina dispersión Raman, por lo tanto, se puede analizar la composición y estructura de la muestra debido a que se genera un estado vibracional distinto del que poseían antes del choque (Figura 7), se presenta de dos maneras y estas son:

- a) Dispersión Stokes: Donde el fotón que incide transmite energía cuando choca con la molécula, lo que conlleva a que su frecuencia sea menor y pierda energía al chocar.
- b) Dispersión anti-stokes: Se presenta cuando el fotón que incide absorbe energía al chocar con moléculas excitadas, lo que produce un aumento en la frecuencia durante el choque <sup>74</sup>.

En la figura 7, se explica el fenómeno que se presenta cuando un haz de luz choca con una muestra. Es importante aquí conocer que la dispersión o scattering se puede definir como el cambio de dirección de la luz causado por la colisión de los fotones con átomos o moléculas del medio, existen dos tipos de dispersión: elástico (Dispersión de Rayleigh) o inelástico (Dispersión de Raman), como se ha mencionado anteriormente, en el scattering elástico no se produce cambio de frecuencia en los fotones dispersados, pero en el caso del inelástico los fotones dispersados si cambian de frecuencia por lo que se produce un intercambio de energía.

Como se observa en la figura 7 existen dos estados que puede tomar la energía: vibracional y virtual, debido a que los iones y átomos enlazados químicamente para formar moléculas y redes cristalinas, están sometidos a constantes movimientos vibracionales y rotacionales. Cuando el fotón incidente es de igual en amplitud al producido sin importar en qué estado se encuentra, se dice que no pierde o gana energía, es decir, experimenta dispersión Rayleigh.

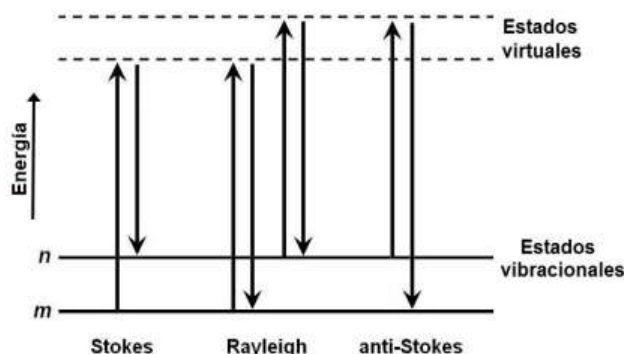
Cuando el fotón incidente varia su amplitud con respecto al producido se genera dispersión Raman, pero esta puede experimentar dos fenómenos Stokes y anti-Stokes. En la figura 7, se observa que cuando el fotón incide y choca con la muestra se reduce la energía lo que impide al fotón cambiar de estado, mientras que en el anti-Stokes ocurre lo contrario, debido a que cuando el fotón incidente choca con la muestra gana energía.

---

<sup>74</sup> Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. Octubre del 2013. División de Materiales avanzados. [Consultado:19/03/2020]. Disponible en: <http://www.linan-ipicyt.mx/Manual%20de%20Raman.pdf>



Figura 7. Procesos de dispersión Rayleigh y Raman



Fuente: Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. Octubre del 2013. División de Materiales avanzados. [consultado:19/03/2020]. Disponible en: <http://www.linan-ipicyt.mx/Manual%20de%20Raman.pdf>

### 3.2. ESPECTRO RAMAN

Para explicar el espectro Raman, se requiere entender las propiedades de la luz, principalmente se entiende que la luz es una radiación electromagnética que posee un comportamiento similar al de una onda, básicamente se describe mediante una función coseno, con el fin de analizar dos parámetros como lo son la longitud de onda y la amplitud. Esta viaja en el vacío con una cantidad de energía electromagnética, la cual se puede describir como la relación de la longitud de onda con la velocidad de la luz denotada con la siguiente formula (véase ecuación 1):

$$V = \frac{C}{\lambda} \quad (1)$$

Donde: V= Frecuencia (Hz), C= velocidad de la luz (m/s) y  $\lambda$  = longitud de onda (nm).

Basados en esta relación se puede plantear que una onda de luz (fotón) entre mayor sea la frecuencia mayor será su energía E y viceversa, como se denota en la ecuación 2.

$$mi \propto v \propto \frac{1}{\lambda} \quad (2)$$

Donde: mi= energía (J),  $v$  = frecuencia (Hz) y  $\lambda$  = longitud de onda (nm).

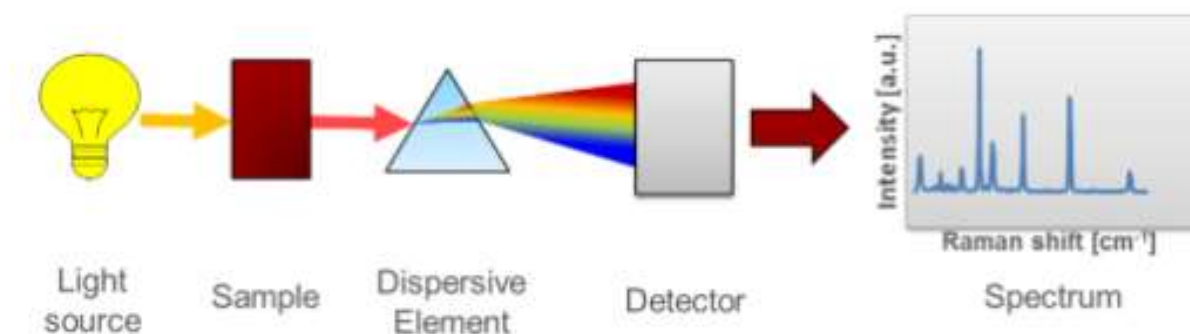
En la espectroscopia se emplea para graficar el espectro la relación inversa a la longitud de onda (número de onda), la cual es directamente proporcional a la energía del fotón y se expresa en (cm-1)

$$\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda} \quad (3)$$

Donde:  $\tilde{\nu}$ = número de onda (cm-1) y  $\lambda$  longitud de onda (Hz).

En la figura 8, se muestra el efecto Raman, este requiere de una alta intensidad de luz que permita tener un espectro Raman de la muestra. Básicamente sucede cuando la fuente de luz incide sobre una muestra la luz se dispersa en varias direcciones, lo que hace la espectroscopia Raman es tomar una fracción de esa dispersión y con ayuda de una rejilla de difracción que divide los haces de luz dispersos obteniendo diferentes longitudes de onda. Por último, utiliza un detector que se encarga de la conversión de la señal de las diferentes longitudes de onda en una señal electrónica.

Figura 8. Obtención de espectro Raman



Fuente: Anton Para. ¿Qué es la espectroscopia Raman?. [Consultado:01/12/2020]. Disponible en: <https://cutt.ly/PhxRHJy>

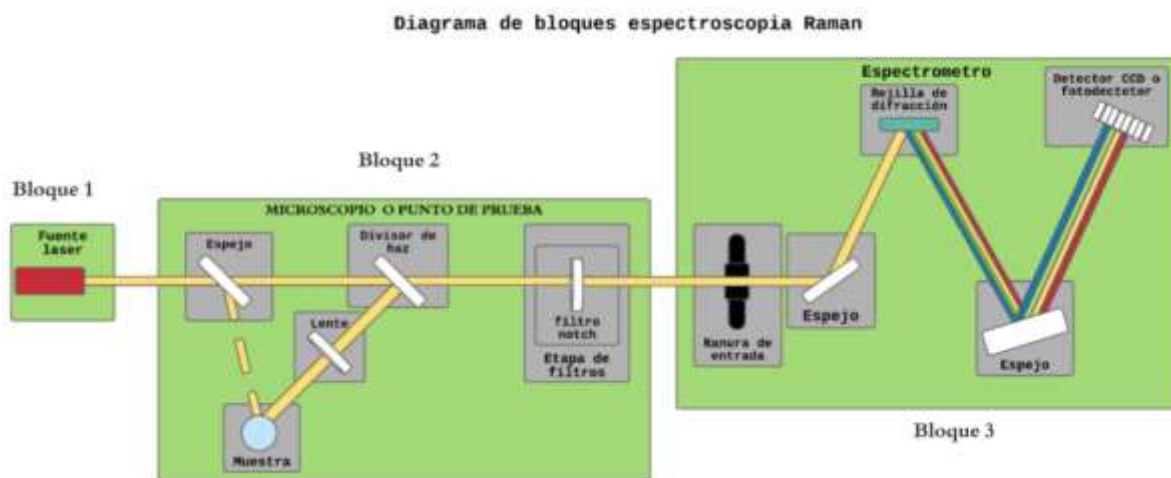
### 3.3. DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA RAMAN

Inicialmente el sistema se compone de 3 bloques principales, el primero es denominado Fuente laser, el segundo es conocido como microscopio o punto de prueba y el ultimo se llama espectrómetro. En la figura 9, se puede observar que en el primer bloque (bloque 1) se encuentra un láser, el cual puede ser un láser de infrarrojo cercano, laser infrarrojo laser verde, laser rojo, entre otros. Para la espectroscopia Raman generalmente se usan láseres en las longitudes de onda que varían entre 380 y 800 nm.

En el segundo bloque (bloque 2), se encuentran 5 componentes: un espejo, la muestra, un lente, un divisor de haz y una etapa de filtros (en el caso de la figura 9,

un filtro notch) los cuales se ubican de manera tal que permitan el análisis del espectro Raman. En el último bloque (bloque 3) se muestra los componentes de un espectrómetro los cuales son: una ranura de entrada, dos espejos, rejilla de difracción y detector CCD o fotodetector. Los componentes clave que permiten obtener el espectro Raman son un láser, en este caso un láser rojo de 633 nm, el segundo es un microscopio donde se recolecta la luz dispersada por la muestra, un tercer componente que en este caso es un filtro notch o filtro dieléctrico, el cuarto componente es una rejilla de difracción para dividir la luz dispersada en longitudes de onda y el quinto componente es un fotodetector para medir la dispersión.

Figura 9. Diagrama básico para realizar espectroscopia Raman



Fuente: Raman spectroscopy and its applications. Febrero del 2013.

[consultado:09/03/2020]. Disponible en:

[https://www.researchgate.net/publication/328528060\\_Raman\\_spectroscopy\\_and\\_its\\_applications/figures?lo=1](https://www.researchgate.net/publication/328528060_Raman_spectroscopy_and_its_applications/figures?lo=1)

Con el fin de explicar claramente el proceso por el que debe pasar la muestra para obtener la información de su estructura química, lo primero que se realiza es colocar la muestra en un portaobjetos de vidrio. Esta debe ubicarse de manera correcta de tal forma que se logre observar en el microscopio el lugar en donde se va a hacer incidir el haz de luz. Para esto, es necesario tener una imagen de la zona de análisis de la muestra, luego se energiza la fuente láser para generar el haz de luz en la muestra para captar la dispersión que este genera al tener contacto con la muestra.

Con el fin de limpiar un poco la señal reflejada al chocar con la muestra se emplea una etapa de filtro en este caso: primero se pasa por un lente que permiten ajustar la intensidad del láser con el fin de no dañar la muestra por la radiación láser y por último un filtro notch que refleja solo la luz del láser y admite el paso de las longitudes de onda derivadas por la dispersión, es decir, esto permite que las longitudes de onda

que conforman la dispersión Raman sean filtradas. Por último, las longitudes de onda filtradas entran a una rejilla de difracción para fraccionar la luz dispersada en longitudes de onda que puedan ser detectadas por un fotodetector o detector CCD garantizando la medición en longitud de onda dichos valores y así obtener el espectro Raman.<sup>75</sup>

### **3.4. SISTEMA RAMAN BASE TEORICA**

En los antecedentes sobre aplicaciones de espectroscopia Raman, se encontró el siguiente artículo, titulado “Application of a near-infrared laser tweezers Raman spectroscopy system for label-free analysis and differentiation of diabetic red blood cells”, el cual se destacó por su forma de presentar el análisis y el sistema empleado para realizar el diagnóstico de diabetes. Por lo tanto, se decidió tomar como base dicho artículo, con el ánimo de reproducirlo y comparar los resultados obtenidos en el laboratorio con los resultados que muestra el artículo.

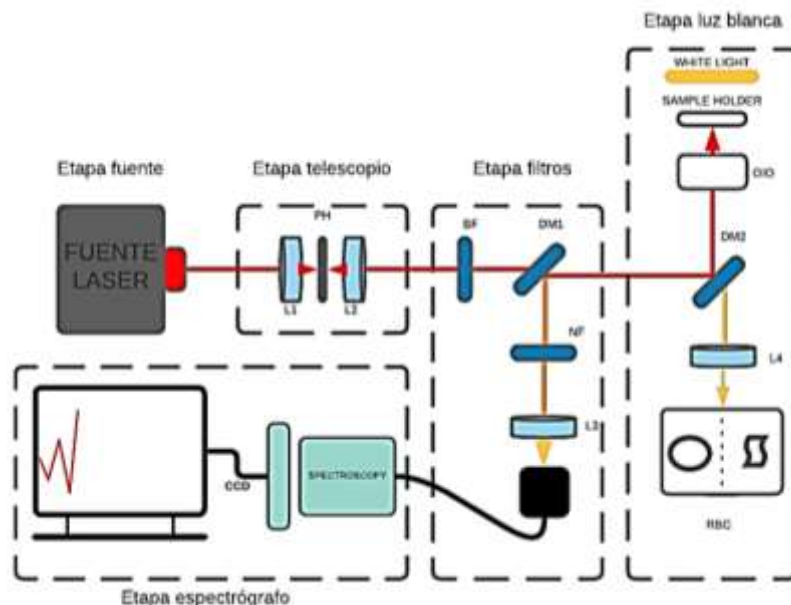
En el diagrama de la figura 10 se observa un sistema Raman, el cual se compone de 5 etapas: La primera (etapa fuente) es una fuente laser la cual se encarga de generar el haz de luz, la segunda(etapa telescopio) es un telescopio, el cual se compone de dos lentes y un diafragma (encargado de moderar la cantidad de luz que ingresa a la cámara), la tercera es la etapa de filtros donde el haz de luz es filtrado con la ayuda de un filtro pasa banda, la cuarta es la etapa de luz blanca, donde se ilumina el RBC con el fin de tomar imágenes de la célula permitiendo un monitoreo en tiempo real de esta, luego con la ayuda de un espejo dicroico (DM2) se refleja una parte del espectro visible, para luego captar con la ayuda de otro espejo dicroico (DM1) los fotones producidos por los eritrocitos, los cuales son filtrados con la ayuda de un filtro notch el cual solo se aprueba el paso de las longitudes de onda deseadas.

Estas longitudes de onda son dirigidas hacia la quinta etapa (etapa espectrógrafo) donde se encuentra un espectrógrafo y un fotodetector que se encargan de visualizar a través de una computadora el espectro Raman.

---

<sup>75</sup> Raman spectroscopy and its applications. Febrero del 2013.  
[Consultado:09/03/2020]. Op. cit., p.1.

Figura 10. Diagrama Espectroscopia Raman



Fuente: Jynyogn Lin, Lingdong Shao, Sufang Qiu. Application of near-infrared laser tweezers Raman spectroscopy system for label-free analysis and differentiation of diabetic red blood cells. 2018. [consultado: 06/10/2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5846543/>

### 3.5. TRATAMIENTO RESPECTIVO DE LA MUESTRA DE SANGRE

A continuación, se explicará el tratamiento que se realizó en este experimento, a la muestra de sangre del paciente con diabetes para obtener el espectro Raman. Primero que todo se debe mencionar como se obtuvo dicha muestra. Inicialmente, se habló con la directora del laboratorio, del Hospital Universitario San Ignacio Dra. Claudia Cardozo, para realizar la solicitud de una muestra de sangre de una persona con diabetes. Debido a la situación de la pandemia, la obtención de la sangre se hizo un poco difícil, puesto que se deben cumplir con una serie de trámites administrativos, para poder obtener una sola muestra. Una vez realizados los trámites administrativos se obtuvo una muestra de sangre, la cual se le hizo el siguiente tratamiento descrito en el protocolo.

#### 3.5.1. Protocolo

En este apartado, es importante mencionar que para el análisis que se va a aplicar se requiere solamente las células de los glóbulos rojos (RBC). Por tanto, la muestra debe seguir el siguiente tratamiento, el cual se realizó con apoyo de Diana Marcela Rojas Campiño, estudiante de maestría de bioingeniería de la universidad Pontificia Javeriana:

1. Se solicitó 4 mL de sangre “total” con diabetes.
2. 3 mL de sangre venosa en ayunas se depositó en tubos anticoagulación EDTA
3. Se realizó una separación de los glóbulos rojos, plasma sanguíneo y los glóbulos blancos mediante centrifugación a 3000 rpm, durante 10 minutos a 4°C.
4. El volumen de los glóbulos rojos para el estudio es de 300 µl.
5. Para purificar los glóbulos rojos se añade solución salina fosfatada (PBS) y se lavan los glóbulos rojos al menos 3 veces.
6. Se elimina el PBS residual por centrifugación a 3000 rpm durante 10 minutos a 4°C.
7. Se emplea agua desionizada pre-enfriada a 4°C y se añade a glóbulos rojos en una proporción de volumen 3:1 (agua/glóbulos rojos empaquetados) para hacer que se rompan las células por la absorción de agua excesiva.
8. Se almacenan 30 minutos a 4°C en el refrigerador para lisar los glóbulos blancos.
9. Las muestras de hemoglobina se centrifugaron a 15000 rpm durante 10 minutos para eliminar la membrana de glóbulos rojos.
10. Se congelan las muestras de hemoglobina a -80°C antes de la medición Raman.
11. Se preparan las muestras con 5c de hemoglobina en una placa de aluminio y se dejan al aire para que se sequen de forma natural antes del análisis.

### **3.5.1.1.Comparación de Protocolos de alistamiento de la sangre**

En la tabla 3, se presenta una comparación entre cuatro protocolos realizados en las muestras de sangre, las cuales fueron empleadas para el diagnóstico de la diabetes en un sistema Raman, donde los criterios a tener en cuenta fueron los siguientes: donante de muestra, numero de muestras, toma de muestra, tipo de muestra, proceso de separación para obtener el tipo de muestra, tratamiento del tipo de muestra y Laser empleado por el sistema Raman.

Dentro de los antecedentes se extrae un procedimiento aplicado directamente al suero de la sangre y dos protocolos empleados en RBC (Red Blood Cell). En cuanto a esta tesis se empleó un protocolo para extraer los glóbulos rojos, el cual es muy similar al del artículo de la tabla denominado Raman spectroscopy of human hemoglobin for diabetes detection, sin embargo, el procedimiento de este documento se diferencia en que en dicho artículo se aplica la técnica de espectroscopia Raman en 76 muestras. Mientras que, en el artículo Application of near-infrared laser tweezers Raman spectroscopy system for label-free analysis and differentiation of diabetic red blood cells empleado como base en este análisis, el procedimiento aplicado a la muestra es mucho más sencillo, debido a que sólo es necesario aplicar solución salina a la muestra cómo se detalló en la sección 3.4.1.

Por otro parte, en la tabla 3 se observa que en el artículo Type 2 diabetes detection based on serum sample Raman spectroscopy, se emplea un protocolo para obtener

solo el plasma, donde simplemente se requiere que se centrifugue y luego se debe congelar está a  $-189^{\circ}\text{C}$  en nitrógeno líquido. Por último, se observa que en la Espectroscopia Raman se emplean longitudes de onda de laser entre 633 nm a 830 nm, la cantidad que se debe tomar de muestra es de 3 ml tubos anticoagulante EDTA en todos los protocolos y se practica esta técnica en una cantidad determinada de personas sanas y con diabetes para generar un respectivo análisis de los picos característicos.

Tabla 3. Comparación de protocolos

	Artículo: Type 2 diabetes detection based on serum sample Raman spectroscopy <sup>76</sup>	Artículo: Raman spectroscopy of human hemoglobin for diabetes detection <sup>77</sup>	Artículo: Application of near-infrared laser tweezers Raman spectroscopy system for label-free analysis and differentiation of diabetic red blood cells <sup>78</sup>	Empleado por nosotros
Donante de muestra	Comité ético de hospitales de México	Hospital de Fuzhou	Hospital de Fuzhou	Hospital Universitario San Ignacio
Número de muestras	15 diabéticos 20 sanos	39 diabéticos 37 sanos	45 diabéticos 45 sanos	2 muestras de sangre
Toma de muestra	3 ml tubos anticoagulante EDTA.	3 ml tubos anticoagulante EDTA.	3 ml tubos anticoagulante EDTA.	3 ml en tubos anticoagulantes EDTA.
Tipo de muestra	Plasma o suero	En glóbulos rojos	En glóbulos rojos	En glóbulos rojos
Proceso de separación para obtener el tipo de muestra	En este artículo no especifican las revoluciones de la centrifuga	Se centrifuga la muestra a 3000 rpm, a 4° C, durante 10 minutos	Se centrifuga la muestra a 3000 rpm, durante 3 a 5 minutos	Se centrifuga la muestra a 3000 rpm a 4° C, durante 10 minutos
Tratamiento del tipo de muestra	Una vez se centrifuga, las muestras son congeladas a -189°C en nitrógeno líquido.	1. Se añade solución salina fosfatada (PBS). 2. Se elimina el PBS residual, centrifugando a 3000 rpm durante 10 minutos a 4°C. 3. se almacenan los RBC en un refrigerador para eliminar los glóbulos blancos 4. Se centrifuga a 15000 rpm durante 10 minutos para eliminar la membrana de los glóbulos rojos 5. Se congela la muestra a -80 °C	1. Se lavan los glóbulos rojos en solución salina fisiológica con una concentración del 0.9 % 2. En un vidrio de cuarzo se coloca una parte de la muestra y se le agregan 2 ml de líquido de suspensión diluido.	1. Se añade solución salina fosfatada (PBS). 2. Se elimina el PBS residual, centrifugando a 3000 rpm durante 10 minutos a 4°C. 3. se almacenan los RBC en un refrigerador para eliminar los glóbulos blancos 4. Se centrifuga a 15000 rpm durante 10 minutos para eliminar la membrana de los glóbulos rojos 5. Se congela la muestra a -80 °C
Láser empleado por el sistema Raman	-Láser de 830 nm. -Número de onda que varían entre 400 y 1800 cm <sup>-1</sup> .	-Láser de 785 nm. -Número de onda que varían entre 400 y 1800 cm <sup>-1</sup> .	-Láser de 633 nm. -Número de onda que varían entre 380 y 800 cm <sup>-1</sup> .	-láser de 663 nm -Número de onda que varían entre 200 a 2000 cm <sup>-1</sup> .

Fuente: El autor.

<sup>76</sup> J. L. Gonzalez-Solis, J. R. Villafan-Bernal, B. E. Martinez-Zerega, S. Sanchez-Enriquez. Type 2 diabetes detection based on serum sample Raman spectroscopy. Op. cit.,p.3.

<sup>77</sup> Juquiang lin, Jinyong Lin, Zufan Huang. Raman spectroscopy of human hemoglobin for diabetes detection. 18/10/2013. [Consultado:08/11/2020]. Disponible en: <https://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/S179354581350051X>

<sup>78</sup> Jynyogn Lin, Lingdong Shao, Sufang Qiu. Application of near-infrared laser tweezers Raman spectroscopy system for label-free analysis and differentiation of diabetic red blood cells. Op.cit.,p.4.



#### **4. IMPLEMENTACIÓN DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN PARA EL DIAGNÓSTICO DE DIABETES**

En este capítulo se documenta la implementación de la espectroscopia Raman para el diagnóstico de la diabetes, desde la preparación de la muestra hasta obtener el espectro Raman de esta.

##### **4.1. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA DE SANGRE**

En esta sección, se menciona la entidad que proporcione la muestra de sangre y se documenta la preparación de la sangre.

Se recogió una muestra de sangre de 1 ml de un paciente con diabetes (figura 11), la cual fue solicitada al hospital universitario San Ignacio. Para obtener esta muestra se cumplió con los requisitos establecidos para la entrega. En ese sentido, se realizó la solicitud mediante el convenio que tiene la Universidad Javeriana con el Hospital San Ignacio, empleando los formatos para solicitud de muestra de sangre para análisis en Laboratorio.

La muestra, fue entregada bajo los criterios manejados por dicha institución, al momento de solicitar la muestra se explicó que se entregaba con el compromiso de que al momento de terminar las pruebas, la muestra fuera inhabilitada con el fin de que esta ya no pueda usarse con otros fines y desechada correctamente. La muestra fue entregada en una nevera de icopor para garantizar la conservación de esta y facilitar el transporte sin generar ningún riesgo hasta el laboratorio, como se observa en la figura 11.

Figura 11. Entrega de muestra de sangre de una persona con diabetes



Fuente: El autor.

Una vez en el laboratorio, la muestra se debe separar en partes iguales, (figura 12.a), para ello es necesario emplear una pipeta para lograr almacenar la sangre de manera adecuada en 2 tubos de microcentrifuga (figura 12.b), estos tubos permiten proteger la muestra del proceso que se llevara a cabo en una máquina de centrifugación.

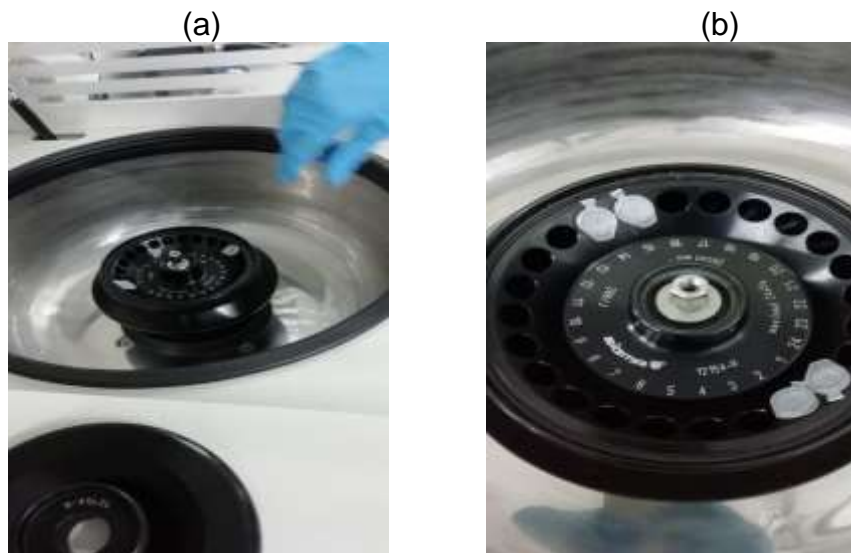
Figura 12. Separación de la muestra de sangre: a. Muestra de sangre inicial. b. Distribución de la muestra en 2 tubos de microcentrifuga.



Fuente: El autor

En la figura 13.a, se muestra la centrifuga (máquina para centrifugar) empleada en este procedimiento. En esta se debe configurar el tiempo y la velocidad, en este caso el tiempo fue 10 minutos a 4° C y la velocidad fue de 3000 rpm. En la figura 13.b, se observa que cuando se ingresan las muestras, se debe garantizar que quede equilibrado el rotor para que la centrifuga no se dañe. Este procedimiento es fundamental para lograr separar de la muestra de sangre el plasma, los glóbulos blancos y los glóbulos rojos.

Figura 13. Ubicación de los 2 tubos de microcentrifuga: a. Centrifuga. b. Balanceo del rotor de la centrifuga.



Fuente: El autor.

Una vez se termina el proceso de centrifugar la muestra, se obtiene el plasma y los RBC por separado. En la figura 14 se observa cómo queda el líquido amarillo encima de los glóbulos rojos, dicho líquido es el suero o plasma de la sangre, y la parte de abajo son los RBC. Posteriormente se añade solución fosfatada para lavar los glóbulos rojos, esta se elimina cuando se centrifuga a 3000 rpm durante 10 minutos a 4°C, este procedimiento se realiza 3 veces.

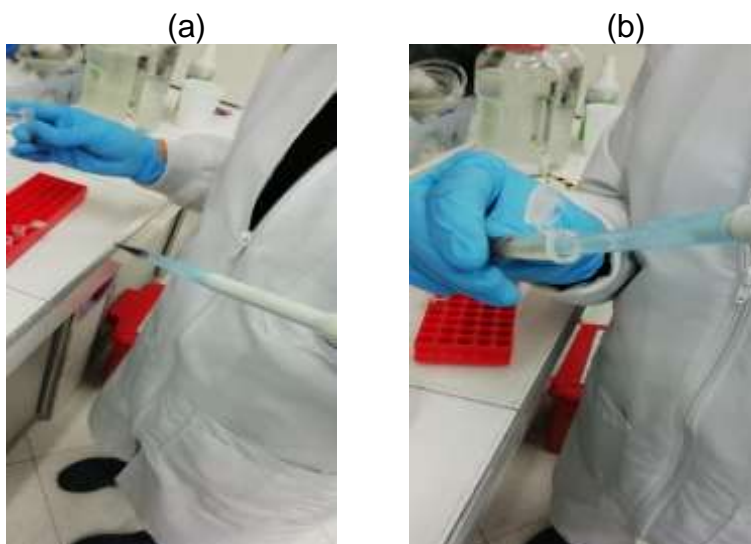
Figura 14. Separación del suero y los RBC.



Fuente: El autor.

Para eliminar las impurezas, inicialmente se extrae los glóbulos rojos en un nuevo tubo de microcentrifuga con la ayuda de una pipeta (figura 15.a), luego se agrega agua desionizada pre-enfriada a 4°C a una porción de volumen 3:1 (agua/glóbulos rojos), se mezcla para eliminar las impurezas y así se rompan las células para la absorción de agua excesiva y por último se centrifugan las muestras a 15000 rpm durante 10 minutos para eliminar la membrana de glóbulos rojos.

Figura 15. Eliminación de impurezas de los RBC: a. Extracción de impurezas. b. Aplicación de solución salina.



Fuente: El autor.

Una vez se eliminan las impurezas de los RBC, se prosigue a colocar en una placa de vidrio, con la ayuda de una pipeta se extrae una parte de la muestra con 5 $\mu$ l de hemoglobina y se deja al aire libre para que los RBC se sequen de forma natural(figura 16), con el fin de tener la muestra lista para luego ser colocada en la plataforma del microscopio del sistema Raman para detectar los glóbulos rojos simples que permiten extraer la información que permite el diagnostico de una persona con diabetes.

Figura 16. RBC sobre porta vidrio de cuarzo



Fuente: El autor

## 4.2. IMPLEMENTACIÓN ESPECTROSCOPIA RAMAN

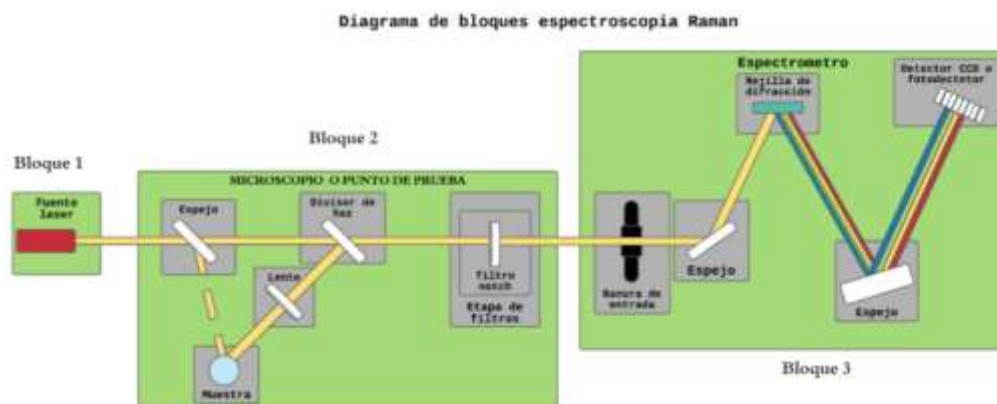
En este apartado se muestra el sistema Raman empleado para las pruebas, la sección donde se incidió el haz de luz y el espectro obtenido en cada muestra.

### 4.2.1. Prueba muestra Inicial

En la figura 17, se observa el sistema Raman, en la parte a) el diagrama de bloques descrito anteriormente y en la parte b) el sistema real, con el ánimo de hacer una relación entre la parte teórica y el sistema Raman. En este sistema, se emplea un microscopio IDRaman de la compañía Ocean Optics, el cual posee un láser de 663 nm, este tiene una gran resolución puesto que es capaz de adquirir datos de 200 a 2000 números de onda.

Figura 17. Sistema Raman empleado.

#### a) Diagrama de Bloques

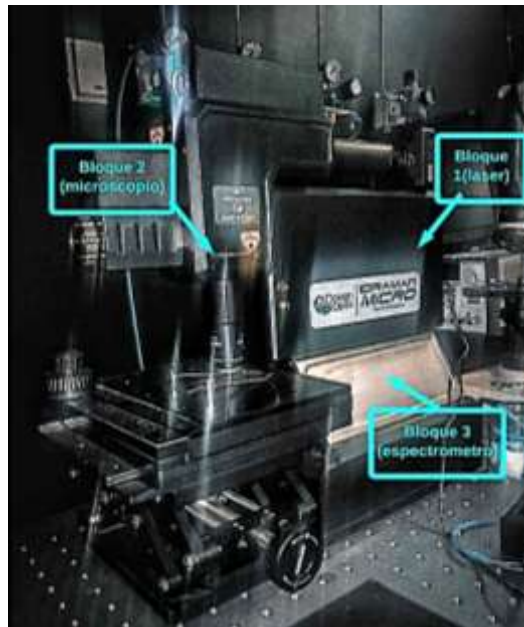


Fuente: Raman spectroscopy and its applications. Febrero del 2013.

[consultado:09/03/2020]. Disponible en:

[https://www.researchgate.net/publication/328528060\\_Raman\\_spectroscopy\\_and\\_its\\_applications/figures?lo=1](https://www.researchgate.net/publication/328528060_Raman_spectroscopy_and_its_applications/figures?lo=1)

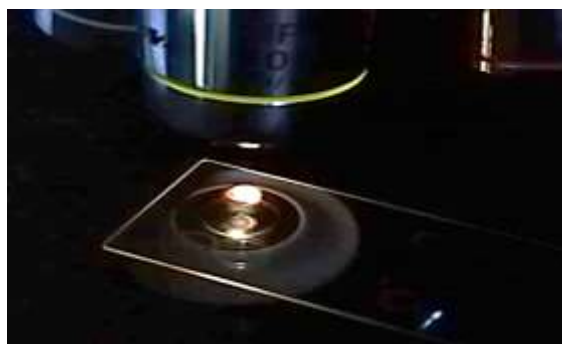
## b) Sistema Real



Fuentes: El autor

Para lograr visualizar el espectro Raman de la muestra como se observa en la figura 18, se necesita posicionar de manera adecuada la muestra en el microscopio, debido a que es obligatorio seleccionar una parte de la muestra para lograr extraer su información química y estructural cuando se haga incidir el haz de luz.

Figura 18. Ajuste de muestra en el microscopio



Fuente: El autor

Una vez se encuentra correctamente posicionada la muestra con respecto al microscopio, se procede a seleccionar la parte de la muestra a la cual se le aplicara la espectroscopia. En la figura 19, se muestra la parte escogida para lograr visualizar el espectro de los RBC's.

Figura 19. Visualización de la muestra en el microscopio



Fuente: El autor

Una vez se escoge la parte de la muestra con la que se trabajara, se hace incidir un haz de luz, el cual es generado por un láser de 663 nm (figura 20), éste debe chocar con la muestra, para obtener una dispersión Raman que permita al sistema con ayuda de los componentes mencionados en el capítulo 3, convertir las longitudes de onda producidas por la estructura de la muestra, en un espectro Raman.

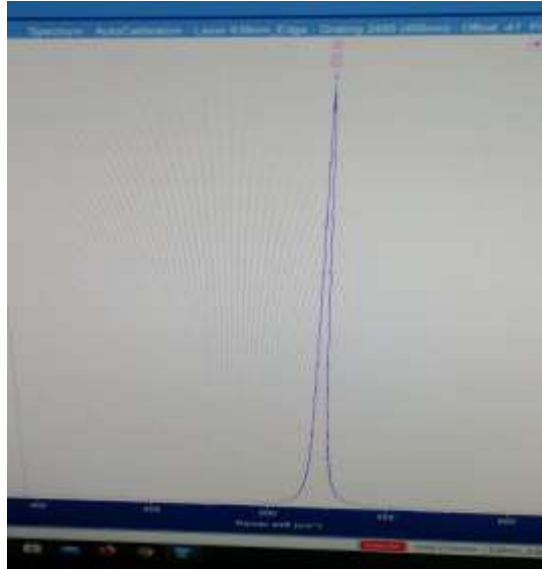
Figura 20. Inicio espectroscopia Raman



Fuente: El autor

Una vez finalizado el procedimiento de la espectroscopia Raman, se logró obtener un primer espectro el cual se visualiza en la figura 21. Este primer resultado no es óptimo, ya que no se logró obtener la cantidad necesaria de picos característicos de una muestra de sangre, por lo tanto, es necesario repetir el procedimiento, pero esta vez en una muestra con una mayor concentración de RBC, puesto que solo se logró visualizar un pico ubicado en  $520.69 \text{ cm}^{-1}$ . Este espectro no se visualiza en Origin, debido a que se empleó el sistema de la Universidad Distrital y el equipo es diferente.

Figura 21. Espectro Raman



Fuente: El autor.

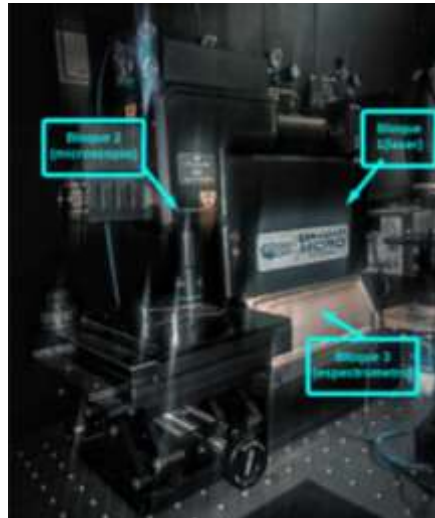
#### 4.2.2. Prueba muestra final

En este apartado se vuelve a implementar la espectroscopia Raman en otra muestra de sangre, debido a que en la primera prueba no se obtuvo ningún tipo de resultado. A continuación, se muestra el espectro Raman obtenido de la muestra de sangre (en RBC).

En la figura 22 se muestra el sistema Raman empleado. La etapa 1 está compuesta por un láser que tiene una longitud de onda de 663 nm, como se mencionó anteriormente. La segunda etapa está compuesta por el microscopio, los espejos y filtros que se necesitan para tratar la información de la dispersión Raman y por último la etapa 3 se encuentra el espectrómetro, el cual se encarga de transformar dichas longitudes de onda en una señal que represente el espectro Raman de la muestra.



Figura 22. Sistema Raman empleado



Fuente: El autor.

En la figura 23 se observa el microscopio, el cual se encarga de visualizar la parte de la sección de la muestra en donde se debe hacer incidir el haz de luz del láser. Una vez se selecciona esta, se procede a activar el sistema para que el láser choque con la superficie puesta en la ranura del microscopio. Adicionalmente, se ubica un vidrio de cuarzo donde se dejó secar la muestra (RBC), por debajo del lente del microscopio como se observa en la figura.

Figura 23. Microscopio



Fuente: El autor.

Una vez se crea la dispersión producida al chocar el haz de luz generado en la etapa 1 con la muestra, se genera el fenómeno de dispersión, el cual debe pasar por una etapa de filtrado con el fin de garantizar que cuando entre por la ranura ubicada en la etapa 3, el espectrómetro logre captar las longitudes de onda del espectro

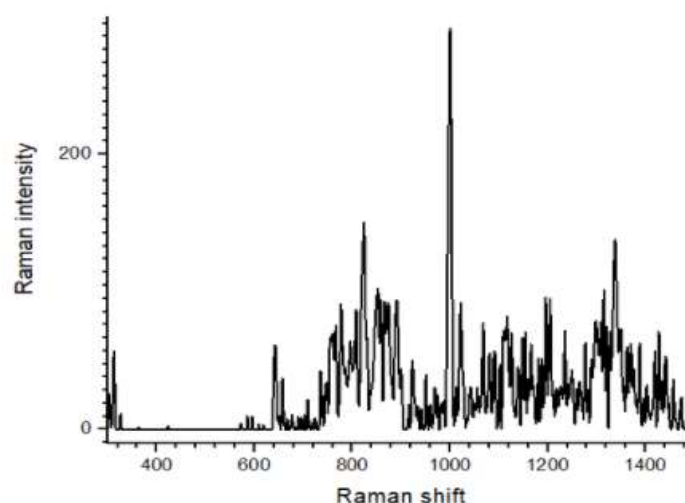
electromagnético para convertirlas en un espectro Raman como el que se evidencia en la figura 24.

El espectro que se logra visualizar del sistema Raman empleado se compone de dos ejes, en el primero (eje y) se denota el valor de la intensidad del pico Raman y en el segundo (eje x) se muestra los números de onda correspondientes a cada pico.

El pico con mayor intensidad tiene un valor de 291.55 y se encuentra ubicado a un número de onda 1000 correspondiente al aminoácido fenilalanina un aminoácido que se produce al consumir alimentos como: leche, carne, huevo, pescado, plátano, jugo de naranja, jugo de tomate y bebidas endulzadas, luego se observaron los siguientes números de onda: 572 (triptófano), 677 (modo de deformación simétrica de porfirina), 755 (modo de vibración de respiración de porfirina), 778 (triptófano), 823 (fructosa), 892 (tirosina), 1022 (fenilalanina), 1129 (ácido láctico), 1212 (marcador sanguíneo), 1558 (marcador sanguíneo), 1622 (marcador sanguíneo). Este espectro no tiene picos en los números de onda correspondientes al intervalo de 400 a 571, donde deberían estar presentes aminoácidos como el triptófano, fenilalanina y leucina los cuales se ven cambios al momento de comparar un espectro sano con uno de una persona con diabetes. Por otro lado, las intensidades son muy similares en bastantes picos causando que sea más difícil analizar cuáles son los picos sobre salientes, por lo tanto, para el análisis de resultado del capítulo 5 se generara el espectro Raman con ayuda de Excel para denotar mejor los picos mencionados anteriormente.

El espectro obtenido junto a cada uno de los picos empleados para el diagnóstico de la diabetes serán explicados y resaltados en la sección del capítulo 5 detalladamente para realizar el respectivo diagnóstico a partir de estos.

Figura 24. Espectro Raman (realizado en el software Origin)



Fuente: El autor.

## 5. COMPARAR LAS PRUEBAS REALIZADAS DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN CON LA BASE TEÓRICA REFERENTE A LA ESPECTROSCOPIA RAMAN DIVULGADA EN LA LITERATURA SOBRE EL ANÁLISIS DE LAS CÉLULAS DE LOS GLÓBULOS ROJOS DE LA SANGRE

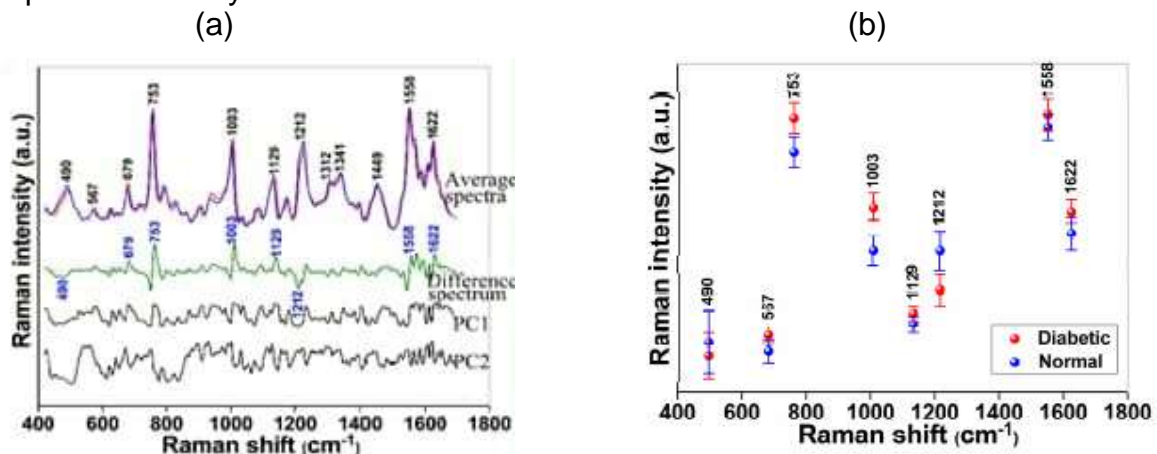
En este capítulo, se resume los resultados obtenidos en el artículo base para lograr comparar estos con los resultados obtenidos en la práctica. Con el fin de caracterizar lo picos en donde se observan los cambios entre un espectro de una persona sana y una diabética.

### 5.1. DESCRIPCIÓN RESULTADOS DEL ARTICULO BASE

Como se ha mencionado, se tomó un artículo base para luego comparar los resultados obtenidos en este trabajo con dicho artículo. En el estudio realizado por los autores del artículo base en el Hospital de Fuzhou, se tomaron un total de 90 muestras de sangre de dos grupos de pacientes uno con diagnóstico de diabetes y otro sano, en este caso se tomaron 45 muestras de pacientes con diabetes y 45 de pacientes sanos, de los cuales se extrajeron 10 muestras de cada grupo respectivamente para el análisis.

En la figura 25.a, se observa todo el espectro Raman que los autores lograron obtener cuando aplicaron la espectroscopia Raman en las muestras de sangre, dicho análisis se realizó únicamente los RBC's. Los picos característicos del espectro Raman son los que permiten establecer el diagnostico de una persona con diabetes

Figura 25. Intensidades Raman presentes en los RBC: a. Espectro Raman RBC de una persona sana y de una con diabetes. b. Intensidades características.



Fuente: Jynyogn Lin, Lingdong Shao, Sufang Qiu. Application of near-infrared laser tweezers Raman spectroscopy system for label-free analysis and differentiation of diabetic red blood cells. 2018. [Consultado: 06/10/2020]. Disponible en: <https://n9.cl/q99rw>

Los resultados que obtuvieron fueron los siguientes: en figura 25a, se encuentra el promedio del espectro de los pacientes sano (gráfica azul) y el espectro promedio de los pacientes con diabetes (gráfica roja), seguidamente en la gráfica verde se identifica la diferencia entre el espectro de los pacientes con diabetes menos el de los pacientes sanos. Los picos Raman donde se logra visualizar mayor diferencia se encuentran en 490, 567, 679, 753, 1003, 1129, 1212, 1558 y 1622  $\text{cm}^{-1}$ .

Para un análisis mucho más claro y visual sobre las intensidades anteriormente mencionadas, en la figura 25.b se toma las intensidades Raman características y aplicando una desviación estándar entre la gráfica azul y la gráfica roja se obtuvo una variación de ( $p < 0.05$ ).

Estos picos se ven ligados a componentes proteicos presentes en los glóbulos rojos. Un glóbulo rojo contiene aproximadamente  $2.5 \times 10^8$  moléculas de hemoglobina, uno de estos componentes proteicos presentes en la hemoglobina es la porfirina<sup>79</sup> que se encarga del transporte del oxígeno en la sangre. Los picos que se asocian a esta son 679 (modo de deformación simétrica de porfirina) y 753  $\text{cm}^{-1}$  (modo de vibración de respiración de porfirina) presentes en el espectro Raman obtenido en los RBC's. En el artículo se menciona que la variación en esta proteína de una persona sana y una persona con diabetes ocurre cuando la persona consume niveles altos de azúcar y genera mayor producción de ésta.

En 1003  $\text{cm}^{-1}$ , se encuentra presente la fenilalanina, un aminoácido producido por alimentos que las personas a diario consumen como el caso de carnes y quesos, a las personas con diabetes se les dificulta procesar la fenilalanina y por tanto la intensidad Raman es mayor con respecto al de una persona normal. Por último, se encontró información en las intensidades de 1212, 1558 y 1622  $\text{cm}^{-1}$  que representan marcadores sanguíneos<sup>80</sup>, estos tienen la función de indicar un daño o lesión generada por diferentes órganos o tejidos, en este caso por el hígado y vasos sanguíneos, los cuales a su vez son indicadores de diabetes en la sangre.

## **5.2.COMPARACIÓN DE RESULTADOS OBTENIDOS CON LOS RESULTADOS DEL ARTICULO BASE**

En esta sección se presenta un análisis comparativo entre el artículo base y los resultados obtenidos en esta tesis basado en los picos característicos del Espectro Raman presentes en los RBC. Dicha comparación será entre el espectro obtenido y el del artículo base, que se seleccionó en esta tesis.

---

<sup>79</sup> MedlinePlus. Porphirinas en sangre. [Consultado: 25/10/2020]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/003372.htm>

<sup>80</sup> Dra. Petra Jiménez Mateos- Cáceres. Capítulo 25: Marcadores sanguíneos utilizados en el diagnóstico y pronóstico del riesgo cardiovascular. [Consultado: 25/10/2020]. Disponible en: [https://www.fbbva.es/microsites/salud\\_cardio/mult/fbbva\\_libroCorazon\\_cap25.pdf](https://www.fbbva.es/microsites/salud_cardio/mult/fbbva_libroCorazon_cap25.pdf)

La visualización de estos espectros se realiza definiendo dos ejes, el primer eje (eje x) representa un número de onda y en el segundo eje (eje y) se observa la intensidad que posee cada número de onda. En el eje x se denota unidades de  $\text{cm}^{-1}$  y el eje y en unidades u.a.

En la figura 26 a correspondiente al espectro de color negro, se evidencia el Raman obtenido de una muestra de sangre donde se analizó solo los RBC, donde solo se tiene un espectro Raman debido a que para este procedimiento solo se logró obtener una muestra de sangre y estos resultados obtenidos se desean comparar con los resultados divulgados en el artículo base, los cuales se observan en la figura 26 b donde se practicó a 70 personas la Espectroscopia Raman (35 personas diabéticas y 35 personas sanas). Los autores de este artículo realizaron un promedio de los espectros obtenidos, donde el de color azul representa el espectro de una persona sana y el de color rojo el de una persona diabética, adicionalmente se realizan la respectiva diferencia entre estos dos espectros, con el fin de observar que tanto varían en intensidad uno del otro y el resultado se representó de color verde. Al poner los espectros la figura 26 a al lado de la figura 26 b se trate de observar que similitudes, diferencias y picos con intensidades características que se logran observar en cada uno de los espectros, estas se explican a continuación.

Para empezar con la comparación de los espectros mencionados anteriormente, se decidí emplear una escala de visualización de 400 a  $1800\text{ cm}^{-1}$  en el eje x, para lograr contrastar mucho mejor la figura 26 a y b. Se iniciara con una descripción detallada del espectro de la figura 26 a, donde se observa que no se encontró ningún pico característico desde 400 a  $570\text{ cm}^{-1}$ , dándonos a entender que no se encuentran niveles altos de hemo componentes de la sangre en esta muestra, luego de  $572\text{ cm}^{-1}$  el espectro empieza a tener cambios de intensidad, pero algunos de estos poseen valores similares, sin embargo fueron excluidos en este análisis debido a que en la literatura no son enunciados como picos característicos de una persona con diabetes. En este espectro Raman denota con color negro, se identifican en recuadros los correspondientes valores de número de onda, que son característicos para diferenciar entre una persona con diabetes y una sana, estos son: 512, 677, 755, 778, 823, 892, 1000, 1022, 1129, 1212, 1558 y  $1622\text{ cm}^{-1}$ .

Sin embargo, en la figura 26 b se encuentran 2 picos característicos en los intervalos donde no se encontró información ( $400\text{ a }1800\text{ cm}^{-1}$ ) debido a que son importantes para analizar el diagnóstico, puesto que en una persona con diabetes en  $490\text{ cm}^{-1}$  (Modo de estiramiento S-S) disminuye su espectro Raman en intensidad con respecto a una persona normal, mientras que en  $567\text{ cm}^{-1}$  pasa lo contrario.

Como un aspecto importante en el espectro obtenido en esta tesis (figura 26 a), se logra observar tres picos que no se encontraron en el espectro Raman del artículo base (figura 26 b) que permite realizar una comparación, los cuales son:  $778\text{ cm}^{-1}$  (triptófano) el cual aumenta para personas con diabetes, debido a que su intensidad

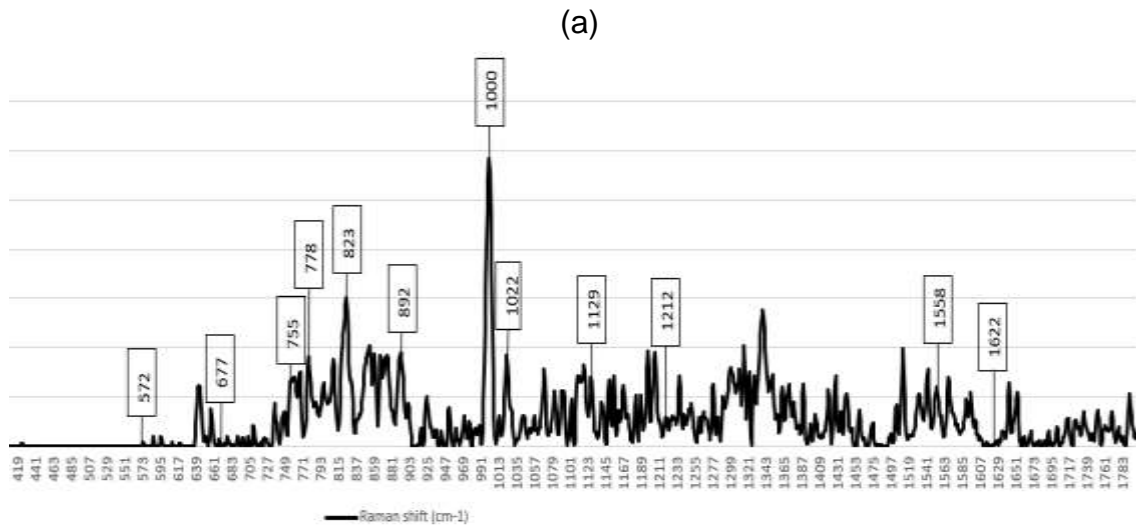
se encuentra alrededor de 83.55 u.a y se considera un pico sobresaliente, en el caso de 823  $\text{cm}^{-1}$  (fructosa) esta disminuye en personas con diabetes y su intensidad es de aproximadamente 143.6 u.a convirtiendo a este en el segundo pico más pronunciado del espectro Raman y por último se encuentra 1022  $\text{cm}^{-1}$  (fenilalanina) la cual disminuye en personas diabéticas y posee una intensidad de 91.85 u.a.

Adicionalmente en la literatura se encontraron que otros picos importantes para el diagnóstico de la diabetes con la técnica de espectroscopia Raman son los siguientes: 567 a 572  $\text{cm}^{-1}$  (triptófano) aumenta en una persona con diabetes , 677 a 679  $\text{cm}^{-1}$  (modo de deformación simétrica de porfirina) aumenta en una persona con diabetes , 753 a 755  $\text{cm}^{-1}$  (modo de vibración de respiración de porfirina) aumenta en una persona con diabetes, 1000 a 1003  $\text{cm}^{-1}$  (fenilalanina) aumenta en una persona con diabetes , 1129  $\text{cm}^{-1}$  (ácido láctico) aumenta en una persona con diabetes, 1212 (marcador sanguíneo) disminuye en una persona diabética, 1558 (marcador sanguíneo) aumenta en una persona con diabetes y 1622  $\text{cm}^{-1}$  (marcadores sanguíneos) aumenta en una persona con diabetes.

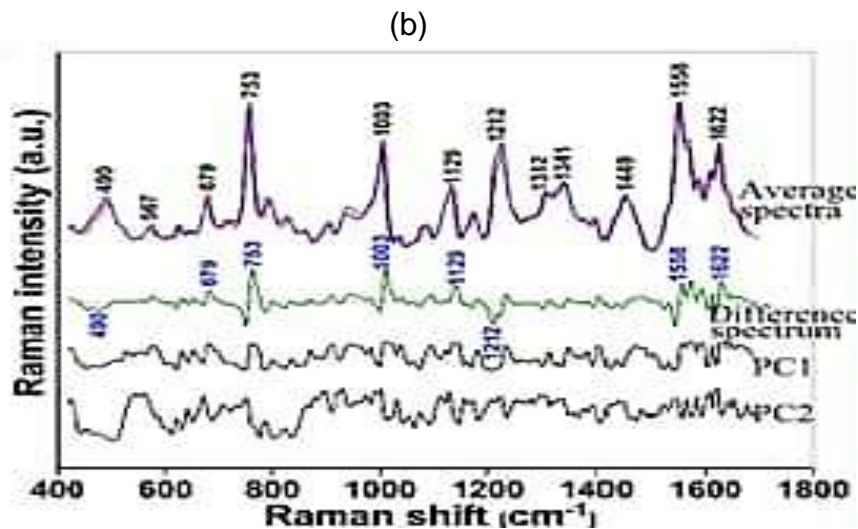
Una vez mencionados los picos anteriores, los cuales son los más relevantes para el diagnóstico de la diabetes, se mencionaran las diferencias que se encuentran entre el espectro Raman obtenido en la práctica (figura 26 a) y el espectro Raman del artículo seleccionado (figura 26 b). Donde la primera diferencia se observa en los picos de 567 a 572 , 677 a 679 y 1212  $\text{cm}^{-1}$ , ya que tienen mayor intensidad en el espectro obtenido por los autores del artículo base, así mismo se logró encontrar otra diferencia en los picos de 753 a 755  $\text{cm}^{-1}$  y 1558  $\text{cm}^{-1}$ , donde se evidencia que el de 753 y 1558 superan la intensidad de los picos que se encuentran entre 1000 a 1003  $\text{cm}^{-1}$  en el artículo base mientras que en los resultados obtenidos en esta tesis el mayor pico se encuentra en 1000  $\text{cm}^{-1}$ , por otro lado en los picos de 1000 a 1003  $\text{cm}^{-1}$  se observa que en el artículo base tiene un intensidad alta como sucede en el espectro obtenido en la práctica, pero la diferencia es que no logra ser el más pronunciado. Por último, en 1129  $\text{cm}^{-1}$  se logra evidenciar que el pico es muy similar en ambos espectros.

En cuanto a la diferencia que se presenta en los dos espectros, denotados en la figura 26 a y 26 b estas son más presentes en los picos característicos como se mencionó anteriormente, puede ser porque en el espectro obtenido por los autores del artículo se aplicó la técnica en 70 muestras donde permite hacer un espectro basado en un promedio generando que este sea más detallado al que se logró obtener en los resultados de esta tesis, debido a que por motivos de pandemia solo se permite donar una muestra de sangre. Otros factores más ligados a la técnica pueden ser visto por la sección de la muestra tomada, el protocolo que se empleó para extraer de la muestra de sangre solo los glóbulos rojos o del láser empleado para dicho análisis.

Figura 26. Espectro Raman (RBC): a. Espectro tesis. b. Espectro articulo base.



Fuente: El autor.



Fuente: Jynyogn Lin, Lingdong Shao, Sufang Qiu. Application of near-infrared laser tweezers Raman spectroscopy system for label-free analysis and differentiation of diabetic red blood cells. 2018. [Consultado: 06/10/2020]. Disponible en: <https://n9.cl/q99rw>

Por lo tanto, se cree que se requiere para un próximo análisis más detallado, disponer de más muestras de sangre con el fin de lograr realizar una caracterización similar a la de dicha figura 26 b y adicionalmente tener un espectro promedio de personas diabéticas y de personas sanas para lograr tener un análisis mucho más profundo y concreto.



El objetivo de esta tabla 4 es resumir lo visualizado en el espectro de la figura 26 a sobre la información de los resultados obtenidos en los picos característicos que permiten ver la diferencia entre una persona diabética y una sana, debido a que estos números de onda pertenecen a hemo componentes, los cuales se afectan en personas con diabetes al tener niveles elevados de glucosa. Esta tabla 4, se muestra el número de onda con su respectiva intensidad y de menciona a qué tipo de biomolécula pertenece.

Tabla 4. Resumen de Picos característicos

Numero de onda (cm-1)	Intensidad (u.a)	Biomoléculas
572	4.05	triptófano
677	10.05	modo de deformación simétrica de porfirina
755	66.05	modo de vibración de respiración de porfirina
778	83.55	triptófano
823	143.6	fructosa
892	87.3	-
1000	291.15	fenilalanina
1022	91.85	fenilalanina
1129	26.15	ácido láctico
1212	20.15	marcadores sanguíneos
1558	29.95	marcadores sanguíneos
1622	1	marcadores sanguíneos

Fuente: El autor.

Finalmente, se logra ver que la prueba de concepto que se aplicó en la muestra de sangre, en la cual se extrae solo los glóbulos rojos permite documentar la técnica espectroscopia Raman como una posible técnica de diagnóstico de diabetes, donde se debe tener en cuenta la tabla 4 para comparar en futuros estudios los picos que se encuentran en estos números de onda que hacer referencia a una biomolécula específica.

### 5.3. COMPARACIÓN DE PROMEDIO ESPECTRAL

Para ver la similitud del espectro obtenido en la literatura y el obtenido en esta tesis se decide calcular el promedio espectral. En el anexo A, se encuentra las tablas respectivas de cómo se realiza los cálculos presentados en la tabla 5. Inicialmente se calculó el promedio del espectro de una persona diabética y basado en este se cambiaron los valores de los picos de intensidad para un espectro de una persona sana basado en una probabilidad del 0.05 como se indica en el artículo, se tiene en cuenta los picos que aumentan o disminuyen con respecto al de una persona. Así



mismo para observar el promedio de variación entre los espectros presentados en el artículo base se obtuvo un 5 % de variación entre estos.

Seguidamente, se realiza el mismo cálculo del promedio espectral en los resultados obtenidos en los picos característicos que se mencionan en la tabla 5, donde se tuvo un promedio espectral Raman de 301.789 a.u., para comparar los resultados obtenidos con los del artículo se calcula el porcentaje que varía entre el espectro obtenido con el espectro del artículo de una persona con diabetes y sana, donde se nota una mayor similitud con el de un espectro de una persona sana de 40.74 % y con una persona diabética 43.70 %.

Los porcentajes son altos, debido a que en el artículo base se tiene mayor precisión al emplear un promedio de una cantidad de 35 muestras por cada espectro y en nuestro caso la técnica por motivos de pandemia, se logró solo conseguir un único espectro de una muestra de sangre.

Tabla 5. Porcentaje de variación de los espectros

Promedio espectral Raman		
Artículo Base		Resultados obtenidos
Diabético	Persona sana	Espectro obtenido
536.0418594	509.2397664	301.7884193
% de variación de espectro Raman diabético con persona sana		% de variación entre espectro diabético y espectro obtenido
5		40.7374602
		43.70058719

Fuente: El autor.

Para resumir la información del documento se realiza la siguiente tabla 6, donde se contrasta cada objetivo con el resultado obtenido. En el caso del primer objetivo específico se emplean dos tablas para resumir la información obtenida de bases de datos, libros y fuentes web, con el fin de comparar en una tabla solamente las técnicas convencionales y en otra las técnicas convencionales frente a la espectroscopia Raman en aspectos como tipo de muestra, tipo de análisis, valores para el diagnóstico, el tratamiento de la muestra y las limitaciones de cada técnica.

El segundo objetivo específico tiene como fin explicar y mostrar cada etapa que necesita realizarse para aplicar la espectroscopia Raman, para lograr esto se realizaron dos diagramas de bloques de sistemas Raman con el fin de explicar cómo funciona internamente este y además en una tabla se plasmó algunos protocolos empleados para el tratamiento de la muestra que son empleadas para diagnóstico de la diabetes.

En el tercer objetivo se aplica la técnica de espectroscopia de Raman como una prueba concepto para la detección de la diabetes, se toma como guía el artículo “Application of near-infrared laser tweezers Raman spectroscopy system for label-free analysis and differentiation of diabetic red blood cells” y se incorporaron imágenes del procedimiento realizado con el ID Raman Micro y el protocolo usado en esta prueba concepto.

Para el cumplimiento del cuarto objetivo se emplean dos tablas, la primera básicamente se muestra los picos característicos empleados para la detección de la diabetes y a las biomoléculas que pertenece y en la segunda tabla se muestra un promedio espectral con el fin de observar la relación entre lo divulgado en la literatura y los resultados obtenidos.

Por último, es importante resaltar que las tablas y figuras resultados de esta tesis son resultado de la recopilación y análisis que se realizó para cumplir con cada uno de los objetivos.

Tabla 6. Objetivos vs resultados

OBJETIVO	RESULTADOS
Compilar las diferentes técnicas para realizar diagnóstico de Diabetes mediante análisis de sangre	Capítulo 2, tabla de comparación de las técnicas de diagnóstico de diabetes empleadas en las muestras de sangre.
Describir las etapas de la espectroscopia Raman para el diagnóstico de la diabetes	Capítulo 3, etapas de la espectroscopia de Raman.
Reproducir la espectroscopia Raman como técnica de detección de la diabetes mediante el desarrollo experimental en el laboratorio.	Capítulo 4, figuras del procedimiento que se realizó a la muestra (RBC), aplicando la técnica de espectroscopia Raman.
Comparar las pruebas realizadas de la Espectroscopia Raman con la base teórica referente a la espectroscopia Raman divulgada en la literatura sobre el análisis de las células de los glóbulos rojos de la sangre	Capítulo 5 tabla de resultados generales sobre los picos característicos usados para el diagnóstico de la diabetes.

Fuente: El autor.

## 6. CONCLUSIONES

- Las técnicas convencionales para el diagnóstico de las diabetes estudiadas en ese trabajo fueron A1C, FPG y glucémica capilar. La prueba A1C tiene una precisión igual a FPG de 0.72, mientras que la glucemia capilar depende del dispositivo de medición (glucómetro) que se emplee. Para realizar el diagnóstico se emplean valores definidos por la ADA, en el caso de la A1C las personas normales se encuentran en un valor menor a 110 mg/dl teniendo una variación de un 10 % con respecto al valor de la prueba FPG y glucemia capilar que es de 100 mg/dl, mientras que en el valor de una persona diabética la variación entre A1C (mayor a 130 mg/dl) y FPG (mayor a 126 mg/dl) es de 3.08%, dichas variaciones se ven ligadas a procedimientos adicionales que tienden a ser invasivos. Sin embargo, al comparar las técnicas mencionadas anteriormente con la espectroscopia Raman se evidencia que para realizar un diagnóstico empleando esta técnica es mucho más simple, debido a que no se requieren reactivos químicos enzimáticos como en las técnicas convencionales, sino que simplemente se analiza la variación de los picos característicos de los componentes de la hemoglobina presentes en la muestra de sangre, para determinar si una persona padece o no de diabetes.
- En sistemas Raman ID Raman de Ocean Optics tiene tres etapas: láser, microscopio y espectrómetro. En cuanto a la primera etapa se emplea laser de longitudes de onda que varían entre 380 y 800 nm, en este caso se empleó un laser de 663 nm, que nos permite visualizar el espectro Raman de la sangre ubicado entre 400 a 1800  $\text{cm}^{-1}$ , el microscopio de este sistema posee una resolución de 8  $\text{cm}^{-1}$ , entre menor sea el valor de esta resolución el rango de valores del eje x será menor. Para el tratamiento de la extracción de los RBC muestra de sangre, se requiere 3 ml de muestra que se debe centrifugar a 3000 rpm, a la cual se le añade concentración de solución salina fosfatada y se centrifuga nuevamente para limpiar un 90% la muestra que se desea analizar.
- Según los resultados obtenidos al compararlos con el espectro divulgado en el artículo seleccionado, las biomoléculas presentan cambios de intensidad en el espectro Raman de en una persona normal y una persona diabética, debido a que pueden aumentar o disminuir en intensidad. Las biomoléculas que aumentan en una persona diabética son las siguientes: 567 a 572  $\text{cm}^{-1}$  (triptófano) esto ocurre porque las personas que sufren de diabetes no poseen un control de sus comidas y se altera su apetito, generando que al consumir un alimento este aminoácido se produzca de manera excesiva, 677 a 679 y 753 a 755  $\text{cm}^{-1}$  porfirina se ve presente por la mala oxigenación de la sangre, 1000 a 1003  $\text{cm}^{-1}$  fenilalanina cambia debido a una alteración en los niveles de glucosa en la sangre, 1129  $\text{cm}^{-1}$  ácido láctico, el ácido láctico es un producto de la glucólisis (metabolización de la glucosa), el aumento del ácido láctico indica acidosis láctica presente en pacientes con diabetes , 1622  $\text{cm}^{-1}$

marcador sanguíneo indica daños o afectaciones en órganos como el páncreas o directamente en los vasos sanguíneos. Las biomoléculas que disminuyen su intensidad en personas con diabetes son: 490  $\text{cm}^{-1}$  leucina este pico no se encontró en el espectro obtenido en esta tesis, pero se tiene en cuenta según lo encontrado en la literatura, 1212 y 1558  $\text{cm}^{-1}$  marcadores sanguíneo muestran daños en órganos y tejidos. Es totalmente coherente que estos sean las biomoléculas que se analicen, debido a que muestran muchos de los inconvenientes presentes en una persona con diabetes como lo es aumento en niveles de glucosa en la sangre, alteraciones su apetito se ve más presente por que sufren mucho de sed, daños en el páncreas y problemas en los vasos sanguíneos que en general puede causar obesidad.

- Según los estudios realizados por la ADA, hasta el momento no existe un método que no requiera de una punción para obtener la muestra del paciente, la cual es empleada para un análisis del nivel de glucosa presente en la sangre. Cuando los pacientes ya son diagnosticados como personas diabéticas, se les solicita llevar un control continuo de los niveles de glucosa, esto conlleva a que deban realizarse varias punciones en el día, esta varía según el tipo de diabetes de la siguiente manera: una punción para pacientes con diabetes tipo 1, dos punciones para pacientes con diabetes tipo 2 y de 6 o más punciones para pacientes con régimen intensivo de insulina. Debido a como se realizan las diversas pruebas tales como A1C, FPG y glucemia capilar, estas solo se podrán realizar una cantidad limitada de pruebas y en caso de que salgan erróneas el paciente deberá volverse a realizar las punciones para nuevas muestras. La espectroscopia Raman, de acuerdo con la Asociación Americana para la diabetes es una herramienta promisorio ya que proporciona más información de la muestra de sangre y a futuro se podrá implementar sin necesidad de extraer la sangre, utilizando sensórica, lo que la convierte en una técnica No invasiva prometedora.

## **7. TRABAJO FUTURO**

Este trabajo de grado al ser el primer estudio realizado sobre la espectroscopia Raman en la universidad Católica de Colombia, permite la oportunidad de presentar trabajos futuros basados en lo siguiente:

1. Aplicar la técnica en un mayor número de muestras de sangre de personas diabéticas y sanas, con el fin de tener una comparación más profunda que permita ver claramente las variaciones de los picos característicos para lograr realizar el diagnóstico de una persona diabética.
2. Implementar la espectroscopia Raman en el diagnóstico de otras enfermedades.
3. Con el fin de analizar la eficiencia de este método para el diagnóstico de la diabetes, se sugiere a futuro aplicar este procedimiento en un grupo de muestras de sangre.
4. Unificar este trabajo de grado con otros proyectos que se están gestionando en el programa, para generar un macroproyecto basado en la detección y prevención de la diabetes.

## **8. ESTRATEGIAS DE COMUNICACIÓN PARA LA TRANSFERENCIA DE RESULTADOS**

Para dar a conocer este trabajo de grado y el alcance que puede llegar a tener la técnica de espectroscopía Raman, tanto en la ingeniería electrónica, como en temas de la salud se emplearan las siguientes estrategias de comunicación:

1. Un artículo de investigación el cual se postulará en un evento científico, con los principales resultados de este trabajo de grado.
2. Socialización del trabajo de grado en el programa de Ingeniería Electrónica y Telecomunicaciones.

## BIBLIOGRAFIA

Angelli Pérez, Yuly A. Prada, Rafael Cabanzo, et al. Diagnosis of chagas disease from human blood serum using surface-enhanced Raman scattering (SERS) spectroscopy and chemometric methods. Noviembre del 2018. [consultado:19/05/2020]. [En línea] [https://www.sciencedirect-com.ucatolica.basesdedatos/proxy.com/science/article/pii/S2214180418300667](https://www.sciencedirect.com/ucatalog/basesdedatos/proxy.com/science/article/pii/S2214180418300667).

ARAUJO ANDRADE, Cuauhtémoc. Espectroscopía óptica aplicada al análisis químico de la sangre. 2005.

AV6 técnicas diagnósticas. Procesado de muestras de sangre en el laboratorio de la clínica. [Consultado: 06/10/2020]. [En línea] [http://axonveterinaria.net/web\\_axoncomunicacion/auxiliarveterinario/41/AV\\_41\\_Procesado\\_de\\_sangre.pdf](http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/auxiliarveterinario/41/AV_41_Procesado_de_sangre.pdf).

Banco de sangre y tejidos de Aragón. Procesamiento de la sangre. [Consultado 27/09/2020]. [En línea] <https://www.bancosangre-aragon.org/procesamiento-de-la-sangre/?cn-reloaded=1>.

BANCROFT, John C. Introduction to matched filters. CREWES Research, 2002, vol. 297.

BAZ, Baz; RIVELINE, Jean-Pierre; GAUTIER, Jean-Francoise. Gestational diabetes mellitus: definition, aetiological and clinical aspects. Eur J Endocrinol, 2016, vol. 174, no 2, p. R43-51.

BEERS, Yardley. The theory of the optical wedge beam splitter. National Bureau of Standards, 1974.

Boniface M. Chege, Zephania Birech, Peter W. Mwangi y Frederick O. Bukachi. 2019.. Utility of Raman spectroscopy in diabetes detection based on biomarker Raman bands and in antidiabetic efficacy studies of herbal extract *Rotheca myricoides* Hochst. [En línea] 23 de Julio 23 de 2019. [Citado el: 19 de 03 de 2020.] <https://cutt.ly/YhyjLN>.

CARE, Foot. Standards of Medical Care in Diabetes 2019. Diabetes Care, 2019, vol. 42, no Suppl 1, p. S124-S138.

Cheng Chen, Li Yang, Hongyi Li, et al . Raman spectroscopy combined with multiple algorithms for analysis and rapid screening of chronic renal failure. Abril 18 del 2020. [consultado:19/05/2020]. [En línea] <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1572100020301460?via%3Dihub>.

Chris Jun Hui Ho, Yik Weng Yew, U.S. Dinish, et al . Diagnosis of hepatitis B based on Raman spectroscopy combined with a multiscale convolutional neural network. Febrero 1 del 2020. [consultado:19/05/2020]. [En línea] <https://www.sciencedirect.com/ucatalica.basesdedatosezproxy.com/science/article/abs/pii/S0923181120300463>.

CIALLA-MAY, Dana; SCHMITT, Michael; POPP, Jürgen. Theoretical principles of Raman spectroscopy. Physical Sciences Reviews, 2019, vol. 4, no 6.

Clínica Antofagasta Laboratorio Pukara. Glicemia y/o insulina Basal y post prandial. [Consultado:30/08/2020]. [En línea] [https://www.clinicaantofagasta.cl/clinica\\_antofagasta/site/artic/20150626/asocfile/20150626111450/cla\\_glicemia\\_insulina\\_basal\\_y\\_ppd.pdf](https://www.clinicaantofagasta.cl/clinica_antofagasta/site/artic/20150626/asocfile/20150626111450/cla_glicemia_insulina_basal_y_ppd.pdf).

CORDERO, Eliana, et al. In-vivo Raman spectroscopy: from basics to applications. Journal of biomedical optics, 2018, vol. 23, no 7, p. 071210.

Cuidateplus. Diabetes. Noviembre 12 del 2018. [consultado:19/03/2020]. . [En línea] <https://cuidateplus.marca.com/enfermedades/digestivas/diabetes.htm>.

D. Mauricio.Docplayer. Diagnóstico difícil. 2010. [consultado:10/04/2020]. . [En línea] <https://docplayer.es/116296296-Diagnostico-dificil-que-a-quien-y-como-d-mauricio-sed-2010.html>.

Daniel Towns. Disciplined. La prueba de glucosa en plasma en ayunas. Febrero 2020. [Consultado 30/08/2020]. [En línea] <https://disciplined.com/compreension-de-la-prueba-de-glucosa-en-plasma-en-ayunas/>.

Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus.Enero 1 del 2014. [consultado:19/03/2020]. . [En línea] [https://care.diabetesjournals.org/content/37/Supplement\\_1/S81](https://care.diabetesjournals.org/content/37/Supplement_1/S81).

Dr. Tango. Medline plus. Examen A1c. 17 de Mayo del 2018. [Consultado: 30/08/2020]. [En línea] <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/003640.htm>.

Dra. Marta Papponetti. Intramed. La HbA1C como método diagnóstico de diabetes. 08 de diciembre del 2009. [Consultado: 30/08/2020]. [En línea] <https://www.intramed.net/contenido.asp?contenido=63046>.

Dra. Petra Jiménez Mateos- Cáceres. Capítulo 25: Marcadores sanguíneos utilizados en el diagnóstico y pronóstico del riesgo cardiovascular. [Consultado: 25/10/2020]. [En línea] [https://www.fbbva.es/microsites/salud\\_cardio/mult/fbbva\\_libroCorazon\\_cap25.pdf](https://www.fbbva.es/microsites/salud_cardio/mult/fbbva_libroCorazon_cap25.pdf).

E.S.E Hospital Nuestra Señora del Carmen del Colegio. Protocolo de glucometría capilar. Agosto 08-2018. [Consultado: 30/08/2020]. [En línea]



[https://www.nusecavirtual.com/wp/documentos/Macroproceso%20Urgencias/procedimientos%20menores/protocolos/PM-PRO04\\_Protocolo\\_de\\_Glucometria\\_Capilar.pdf](https://www.nusecavirtual.com/wp/documentos/Macroproceso%20Urgencias/procedimientos%20menores/protocolos/PM-PRO04_Protocolo_de_Glucometria_Capilar.pdf).

EL PERSONAL DE HEALTHWISE. CIGNA. ¿QUE ES A1C?. 19 DE DICIEMBRE DEL 2019. [Consultado: 30/08/20]. . [En línea] <https://www.cigna.com/individuals-families/health-wellness/hw-en-espanol/temas-de-salud/que-es-la-a1c-uq1181abc>.

Elisa Gurian, Pablo Giraudi, Natalia Rosso, et al. Differentiation between stages of non-alcoholic fatty liver diseases using surface-enhanced Raman spectroscopy. Mayo 8 del 2020. [consultado:19/05/2020]. . [En línea] <https://www.sciencedirect.com/ucaticol/basesdedatosezproxy.com/science/article/abs/pii/S0003267020302300>.

FRENK, J., et al. Manual de procedimientos para la toma de medidas clínicas y antropométricas en el adulto y adulto mayor. México: Secretaría de Salud, 2002, p. 1-54.

Gabriela I. Lacconi. Fundamentos y aplicaciones de la espectroscopia Raman en sistemas electroquímicos. [ Consultado: 06/10/2020]. . [En línea] <http://faa.unse.edu.ar/apuntes/analinst/raman.pdf>.

GARCÍA TORRES, Nabeysis. Efecto de aminoácidos dietéticos (Glutamina) en la capacidad secretora de insulina de las células beta del páncreas. Implicaciones en la fisiopatología de la diabetes. Revisión sistemática. 2019.

GEVA, Mika, et al. The association between fasting plasma glucose and glycated hemoglobin in the prediabetes range and future development of hypertension. Cardiovascular diabetology, 2019, vol. 18, no 1, p. 53.

GÓMEZ-PERALTA, F., et al. ¿ Cuándo empieza la diabetes? Detección e intervención tempranas en diabetes mellitus tipo 2. Revista Clínica Española, 2020, vol. 220, no 5, p. 305-314.

GUEVARA, Edgar, et al. Use of Raman spectroscopy to screen diabetes mellitus with machine learning tools. Biomedical Optics Express, 2018, vol. 9, no 10, p. 4998-5010.

H.F. Nargis, H. Nawaz, A. Ditta, et al ..Raman spectroscopy of blood plasma samples from breast cancer patients at different stages. Noviembre 5 del 2019. [consultado:19/05/2020]. . [En línea] <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1386142519306006>.

HongchunLu, ShengweiTian, LongYu, et al . Diagnosis of hepatitis B based on Raman spectroscopy combined with a multiscale convolutional neural network. Marzo del 2018. [consultado:19/05/2020]. . [En línea]

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924203119301997?via%3Dihub>.

Horiba. ¿Que es un detector CCD?. [consultado:10/04/2020]. [En línea] [https://www.horiba.com/en\\_en/technology/measurement-and-control-techniques/spectroscopy/detectors/what-is-a-ccd-detector/](https://www.horiba.com/en_en/technology/measurement-and-control-techniques/spectroscopy/detectors/what-is-a-ccd-detector/).

Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica. . Octubre del 2013. División de Materiales avanzados.[consultado:19/03/2020]. . [En línea] <http://www.linan-ipicyt.mx/Manual%20de%20Raman.pdf>.

J. L. Gonzalez-Solis, J. R. Villafan-Bernal, B. E. Martinez-Zerega, S. Sanchez-Enriquez. Type 2 diabetes detection based on serum sample Raman spectroscopy. Mayo 17 del 2018. [consultado:19/03/2020]. [En línea] <https://n9.cl/ydkf> .

J.jimeno Mollet, N. Molist Brunet, J. Franch Nadal. Diagnosticando la diabetes mellitus tipo 2: en atención primaria, con la glucemia basal y la hemoglobina glucosilada es suficiente. [Consultado: 10/10/2020]. [En línea] <https://www.elsevier.es/en-revista-atencion-primaria-27-articulo-diagnosticando-diabetes-mellitus-tipo-2-13066409> .

Jeremy F. Schultz, Sayantan Mahapatra, Linfei Li, and Nan Jiang, "The Expanding Frontiers of Tip-Enhanced Raman Spectroscopy," Appl. Spectrosc. 74, 1313-1340 (2020).

Juan Miguel. Astroyciencia. Que es una lente y tipos de lente. Septiembre 18 del 2011. [consultado:10/04/2020]. . [En línea] <http://www.astroyciencia.com/2011/09/18/que-es-una-lente-y-tipos-de-lentes/>.

Julián Pérez Porto y Maria Merino.Definición. Definición de Polisacáridos. 2015. [consultado:10/04/2020]. . [En línea] Disponible en: <https://definicion.de/polisacaridos/> .

Juquiang lin, Jinyong Lin, Zufan Huang. Raman spectroscopy of human hemoglobin for diabetes detection. 18/10/2013. [Consultado:08/11/2020]. [En línea] <https://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/S179354581350051X> .

Jynyogn Lin, Lingdong Shao, Sufang Qiu. Application of near-infrared laser tweezers Raman spectroscopy system for label-free analysis and differentiation of diabetic red blood cells. 2018. [Consultado: 06/10/2020]. [En línea] <https://n9.cl/q99rw>.

KidsHealth. Insulina. [consultado:10/04/2020]. . [En línea] <https://kidshealth.org/es/parents/insulin-esp.html>.

Li, Zang, Sun, Jiao, et al .A noninvasive accurate measurement of blood glucose levels with Raman spectroscopy of blood in microvessels. Mayo 17 del 2018. [consultado:19/03/2020]. [En línea] <https://cutt.ly/RhyyKGO>.

Liting Shao PhD, Aiyang Zhang PhD, Zhen Rong PhD, et al. Fast and non-invasive serum detection technology based on surface-enhanced Raman spectroscopy and multivariate statistical analysis for liver disease. Febrero del 2018. [consultado:19/05/2020]. . [En línea] <https://www.sciencedirect.com/ucatalog/basesdedatos/proxy.com/science/article/abs/pii/S1549963417302186>.

LITWAK, LEÓM E., et al. MONITOREO CONTINUO DE GLUCOSA. UTILIDAD E INDICACIONES. Revista Medicina, 2019, vol. 79, no 1.

MAHESH, Sriram; TANG, Kuei-Chien; RAJ, Monika. Amide bond activation of biological molecules. Molecules, 2018, vol. 23, no 10, p. 2615.

Mayoclinic. Hiperglucemia en la diabetes. [consultado:10/04/2020]. [En línea] <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/hyperglycemia/symptoms-causes/syc-20373631>.

Medina Organización Mundial de la Salud. Diabetes. Mayo 15 del 2020. [consultado:19/05/2020]. . [En línea] <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.

Medlineplus información de salud para usted. Prueba de glucosa en la sangre. Marzo de 2020. [Consultado: 27/09/2020]. . [En línea] <https://medlineplus.gov/spanish/pruebas-de-laboratorio/prueba-de-glucosa-en-la-sangre/>.

MedlinePlus. Porfirinas en sangre. [Consultado: 25/10/2020]. . [En línea] <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/003372.htm> .

MELLITUS, Diabetes. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes care, 2005, vol. 28, no S37, p. S5-S10.

Natalia Castejón. Web consultas. Triptófano, el aminoácido que mejora tu ánimo. Abril 11 del 2019. [consultado:10/04/2020]. . [En línea] <https://www.webconsultas.com/belleza-y-bienestar/habitos-saludables/que-es-el-triptofano-y-cuales-son-sus-propiedades>.

National institute of diabetes and digestive and kidney diseases. La prueba de A1C y la diabetes. Abril de 2019. [Consultado: 27/09/2020]. [En línea] <https://www.niddk.nih.gov/health-information/informacion-de-la-salud/diabetes/informacion-general/pruebas-diagnostico/prueba-a1c-diabetes#:~:text=La%20prueba%20de%20A1C%20mide,de%20glucosa%20en%20la%20sangre>.

Neandder A. Correia, Lucas T. A. Batista, Roberto J.M, et al. Detection of prostate cancer by Raman spectroscopy: A multivariate study on patients with normal and

altered PSA values. Marzo del 2020. [consultado:19/05/2020]. . [En línea] [https://www.sciencedirect-com.ucatolica.basesdedatosezproxy.com/science/article/abs/pii/S1011134419309601](https://www.sciencedirect.com/ucatolica.basesdedatosezproxy.com/science/article/abs/pii/S1011134419309601).

Nieves Abril Díaz, J. Antnio Bárcena, Emilio Fernandez Reyes. Espectrofometria: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. [Consultado: 06/10/2020]. [En línea] [https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08\\_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf](https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf) .

NqobileNjoko, MarcelLouzada, JonathanBrittona, et al. Bioelectrocatalysis and surface analysis of gold coated with nickel oxide/hydroxide and glucose oxidase towards detection of glucose.Noviembre 5 del 2019. [consultado:19/03/2020]. . [En línea] <https://www.sciencedirect-com.ucatolica.basesdedatosezproxy.com/science/article/abs/pii/S0927776520302113?via%3Dihub>.

QASEEM, Amir, et al. Hemoglobin A1c targets for glycemic control with pharmacologic therapy for nonpregnant adults with type 2 diabetes mellitus: a guidance statement update from the American College of Physicians. *Annals of internal medicine*, 2018.

Raman spectroscopy and its applications. Febrero del 2013. [consultado:09/03/2020]. . [En línea] [https://www.researchgate.net/publication/328528060\\_Raman\\_spectroscopy\\_and\\_its\\_applications/figures?lo=1](https://www.researchgate.net/publication/328528060_Raman_spectroscopy_and_its_applications/figures?lo=1).

Rubiya Khrusheed, Sachin Kumar, Sheetu Wadhwa, et al. Medium.Treatment strategies against diabetes: Success so far and challenges ahead.Noviembre 5 del 2019. [consultado:19/03/2020]. . [En línea] <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S00>.

SÁNCHEZ FERNÁNDEZ, Juan Pedro. Efemérides: 1817. Joseph von Fraunhofer. Determinación del poder de refracción y dispersión del color de diferentes tipos de vidrio, en relación con el perfeccionamiento de telescopios acromáticos. . s.l. : Revista 100cias@ uned, Nueva época, 2017, vol. 10, p. 194-199.

Saranjam Khan, Rahat Ullah, Shaheen Shahzad, et al.Analysis of tuberculosis disease through Raman spectroscopy and machine learning. Diciembre 24 del 2018. [consultado:19/05/2020]. [En línea] <https://www.sciencedirect-com.ucatolica.basesdedatosezproxy.com/science/article/abs/pii/S1572100018302539#!>.

Significados. Significados de glucemia. 2013. [Consultado: 30/08/2020] . [En línea] <https://www.significados.com/glucemia/#:~:text=La%20glucemia%20basal%20es%20el,y%20despu%C3%A9s%20del%20descanso%20nocturno>.

SILFVAST, William T. Laser fundamentals. Cambridge university press, 2004.

SINCLAIR, Alan J. Diabetes in old age. wiley blackwell, 2009.

SJD hospital de Barcelona. Control de glucosa. 26/02/2019. [Consultado: 30/08/2020]. [En línea] <https://diabetes.sjdhospitalbarcelona.org/es/diabetes-tipo-1/debut/como-realizar> .

SUAREZ, Frank. Diabetes Sin Problemas. EL Control de la Diabetes con la Ayuda del Poder del Metabolismo. eBookIt. com, 2015.

Texas heart institute. La sangre. [Consultado: 28/09/2020]. [En línea] <https://www.texasheart.org/heart-health/heart-information-center/topics/la-sangre/>.

Tomaso Becerra. Medium. Espectroscopía Raman y sus Aplicaciones Clínicas. Agosto 4 del 2017. [consultado:19/05/2020]. . [En línea] :<https://medium.com/@tomasobecerra/espectroscop%C3%ADa-raman-y-sus-aplicaciones-cl%C3%ADnicas-58035097711d>.

UC San Diego Health. Glucosa (en sangre). Enero 2017. [Consultado 30/08/20] . [En línea] [https://myhealth.ucsd.edu/Spanish/RelatedItems/167,glucose\\_blood\\_ES](https://myhealth.ucsd.edu/Spanish/RelatedItems/167,glucose_blood_ES).

Valentina D'Elia, Gemma Montalvo, Carmen García Ruiz, et al. Ultraviolet resonance Raman spectroscopy for the detection of cocaine in oral fluid. Enero 5 del 2018. [consultado:19/05/2020]. [En línea] <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S138614251730567X>.

Verónica Mollejo. Alimento. Los alimentos que contienen glutatión, el antioxidante más poderoso. Marzo 6 del 20. [consultado:19/05/2020]. . [En línea] [https://www.alimento.elconfidencial.com/bienestar/2020-03-26/glutation-poderoso-antioxidante\\_1645378/](https://www.alimento.elconfidencial.com/bienestar/2020-03-26/glutation-poderoso-antioxidante_1645378/).

WANG, Wen-ting, et al. Research progress of Raman spectroscopy in drug analysis. AAPS PharmSciTech, 2018, vol. 19, no 7, p. 2921-2928.

ZHOU, Wen, et al. Gold nanoparticles for in vitro diagnostics. Chemical Reviews, 2015, vol. 115, no 19, p. 10575-10636.

## ANEXOS

### ANEXO A Tablas de promedio de los espectros Raman

En la tabla 7, para calcular el promedio espectral del espectro obtenido en esta tesis, se debe conocer los picos característicos de número de onda 572, 677, 755, 1000, 1129, 1212, 1558 y 1625  $\text{cm}^{-1}$ . Basado en los resultados obtenidos en el espectro de graficado en Excel, se tomaron los valores de la intensidad de los picos mencionados en la unidad (a.u.). Para calcular el promedio espectral se requiere elevar inicialmente la intensidad de cada pico, luego realizar la respectiva sumatoria de cada valor y al obtener la suma total de las intensidades al cuadrado, se saca raíz cuadrada. En este caso el valor obtenido del promedio espectral es de 301.8045725. Las intensidades más pronunciadas son en 755 y 1000, generando mayor peso en el cálculo.

Tabla 7. Promedio del espectro obtenido

Tabla de promedio espectral obtenida		
Número de onda( $\text{cm}^{-1}$ )	Intensidad(a.u)	(Intensidad(a.u)) <sup>2</sup>
572	4	16
677	10	100
755	66	4356
1000	291	84681
1129	26	676
1212	20	400
1558	29	841
1625	4	16
Sumatoria		91086
Raíz para obtener el promedio espectral		301.8045725

Fuente: El autor.

En la tabla 8 a y b, para calcular el promedio espectral del espectro obtenido en esta tesis, se debe conocer los picos característicos de número de onda 572, 677, 753, 1003, 1129, 1212, 1558 y 1625  $\text{cm}^{-1}$ . En la tabla 8 a, se calculó el promedio del espectro para una persona con diabetes, donde se obtuvo un valor de 536.0418594 a.u. y en la tabla 8 b se calculó el espectro promedio de una persona sana, donde se obtuvo un valor de 509.2397664 a.u. De estos resultados se puede observar que la variación es aproximadamente baja, pero se encuentra un poco alejado de los resultados obtenidos. Las intensidades en ambas tablas son más altas que los de la tabla 7, lo que genera el incremento de dicho promedio.

Tabla 8. Promedio del espectro del artículo base. a. Persona con diabetes b. Persona sana

(a)

Tabla de promedio espectral de una persona con diabetes		
Número de onda(cm-1)	Intensidad(a.u)	(Intensidad(a.u))^2
572	5	25
677	72.75	5292.5625
753	291	84681
1003	218.25	47633.0625
1129	153	23409
1212	143	20449
1558	291	84681
1625	145.5	21170.25
Sumatoria		287340.875
Raíz para obtener el promedio espectral		536.0418594

Fuente: El autor.

(b)

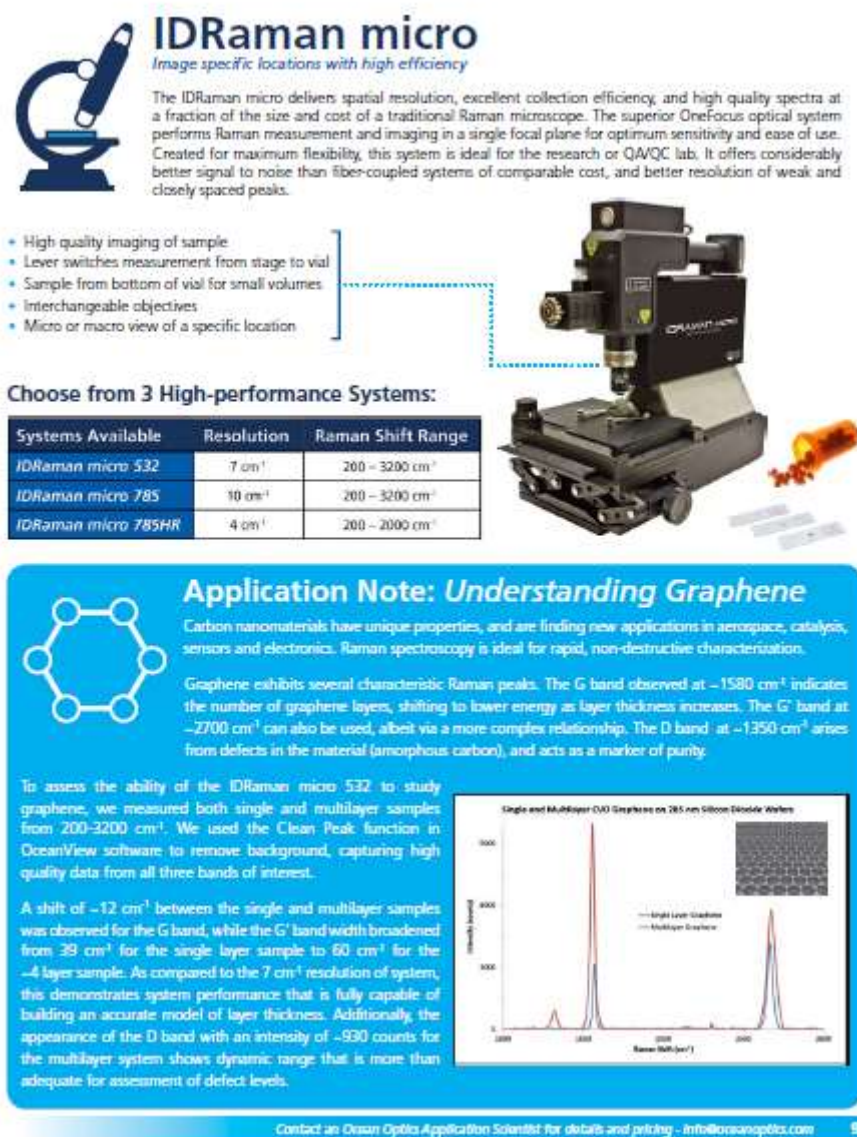
Tabla de promedio espectral de una persona sana		
Número de onda(cm-1)	Intensidad(a.u)	(Intensidad(a.u))^2
572	4.75	22.5625
677	69.1125	4776.537656
753	276.45	76424.6025
1003	207.3375	42988.83891
1129	145.35	21126.6225
1212	135.85	18455.2225
1558	276.45	76424.6025
1625	138.225	19106.15063
Sumatoria		259325.1397
Raíz para obtener el promedio espectral		509.2397664

Fuente: El autor.

## ANEXO B FICHA TECNICA DEL ID RAMAN MICRO (OCEAN OPTICS)

La ficha técnica del ID Raman micro (Figura 27) proporciona la resolución de los diversos sistemas, este varía entre 4 y 10  $\text{cm}^{-1}$  dependiendo de la longitud de onda empleada por el láser. Además, este tipo de sistema ofrece una buena resolución en un solo plano focal, se debe tener en cuenta que según la resolución se tendrá un intervalo de visualización en el eje x del espectro generado por la muestra.

Figura 27. Ficha Técnica del Sistema Raman



Fuente: El autor.